

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ODILEI ROGERIO PRADO

**EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE BORREGAS E OVELHAS SUBMETIDAS A
PROTOCOLOS HORMONAIS DE CURTA E LONGA DURAÇÃO E
INSEMINADAS EM TEMPO FIXO COM DIFERENTES METODOLOGIAS E
TIPOS DE SÊMEN**

Curitiba
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ODILEI ROGERIO PRADO

**EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE BORREGAS E OVELHAS SUBMETIDAS A
PROTOCOLOS HORMONAIS DE CURTA E LONGA DURAÇÃO E
INSEMINADAS EM TEMPO FIXO COM DIFERENTES METODOLOGIAS E
TIPOS DE SÊMEN**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências Veterinárias.

Orientadora: Profa. Dra. Alda Lúcia Gomes Monteiro
Co-Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Medeiros Bastos
Comitê de Orientação: Prof. Dr. João Ricardo Dittrich
Prof. Dr. Paulo Rossi Jr.

Curitiba
2013

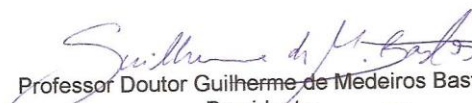
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

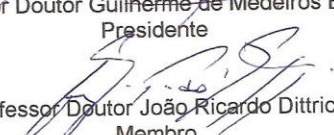


PARECER


A Comissão Examinadora da Defesa da Tese intitulada **“EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE BORREGAS E OVELHAS SUBMETIDAS A PROTOCOLOS HORMONAIS DE CURTA E LONGA DURAÇÃO E INSEMINADAS EM TEMPO FIXO COM DIFERENTES METODOLOGIAS E TIPOS DE SÊMEN”** apresentada pelo Doutorando **ODILEI ROGERIO PRADO** declara ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou o candidato AROUND para receber o Título de Doutor em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

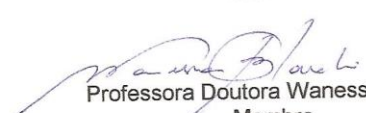
Curitiba, 26 de fevereiro de 2013


Professor Doutor Guilherme de Medeiros Bastos
Presidente


Professor Doutor João Ricardo Dittrich
Membro


Professor Doutor Ivan R. de Barros Filho
Membro


Professor Doutor Thales Ricardo Rigo Barreiros
Membro


Professora Doutora Wanessa Blaschi
Membro



Universidade Estadual do Centro-Oeste

Reconhecida pelo Decreto Estadual nº 3.444, de 8 de agosto de 1997

COMITÊ DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS - CEUA/UNICENTRO/G

Ofício nº 001/2012 - CEUA/UNICENTRO/G

Guarapuava, 02 de março de 2012.

Senhor Professor,

1. Comunicamos que o projeto de pesquisa intitulado: "Resposta a sincronização deaios em ovinos com protocolo de curta ou longa duração de exposição ao progestágeno visando a inseminação artificial em tempo fixo", parecer 050/2011 foi analisado e considerado **APROVADO** pelo Comitê de Ética em Uso de Animais de nossa Instituição em Reunião Ordinária no dia 02 de março de 2012.
2. Em atendimento à Resolução 196/96 do CNS, deverá ser encaminhado ao CEUA o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento do mesmo.
3. Observamos ainda que se mantenha a devida atenção aos Relatórios Parciais e Finais na seguinte ordem:
 - Os *Relatórios Parciais* deverão ser encaminhados ao CEUA assim que tenha transcorrido um ano da pesquisa.
 - Os *Relatórios Finais* deverão ser encaminhados ao CEUA em até 30 dias após a conclusão da pesquisa.
 - Qualquer alteração na pesquisa que foi aprovada, como por exemplo, número de sujeitos, local, período, etc. deverá ser necessariamente enviada uma carta justificativa para a análise do CEUA.

Pesquisador: Guilherme de Medeiros Bastos

Atenciosamente,

Prof. Rosilene Rebeca
Presidente do CEUA/UNICENTRO
Port. 1.403/2011 - GR/UNICENTRO

Ao Senhor
Prof. Guilherme de Medeiros Bastos
DEVET - Departamento de Medicina Veterinária
SEAA - Setor de Ciências Agrárias e Ambientais
UNICENTRO

www.unicentro.br

Campus Santa Cruz: Rua Pres. Zacarias 875 - Cx. Postal 3010 - Fone: (42) 3621-1000 - FAX: (42) 3621-1090 - CEP 85.015-430 - GUARAPUAVA - PR

Dedico

*Ao meu querido filho Arthur Monteiro Prado,
A minha amada esposa Alda Lúcia Gomes Monteiro,
Aos meus pais Sonia Bressan e José Prado,
Aos amigos e colegas de profissão.*

AGRADECIMENTOS

Á DEUS, nosso pai e criador de todas as coisas, pelo dom da vida e saúde.

Ao meu filho Arthur, a minha esposa Alda e a meus pais Sonia Bressan e José Prado por todo amor, carinho, compreensão e paciência, que foram fundamentais para auxiliar-me no enfrentamento e superação dos desafios impostos neste período.

A Universidade Federal do Paraná, e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) pelo êxito no desempenho da função de formação acadêmica, pesquisa e extensão.

Aos professores orientadores Alda Lúcia Gomes Monteiro e Guilherme de Medeiros Bastos, que não mediram esforços para oportunizar condições adequadas para execução do trabalho, aprendizado, amizade, crescimento pessoal e profissional.

A todos os professores e funcionários do PPGCV, pela convivência e nas disciplinas cursadas, e em especial aos professores João Ricardo Dittrich e Paulo Rossi Junior, por colaborarem como integrantes do comitê de orientação.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos por todo o período do curso, e também durante o Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo auxílio financeiro dos projetos (574674/2008-0 e 559182/2010-4) utilizados para execução dos experimentos que compõem a tese.

Aos amigos e pós-graduandos do Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos (LAPOC / UFPR), Cláudio, Damaris, Edson, Fernando, Jordana, Maria Angela, Sérgio, Susana, Talita, Thaila que por muitas vezes deixarem seus outros afazeres para colaborar de forma intensiva nos trabalhos desta tese.

Ao amigo Médico Veterinário Bruno Bueno Saab, que sempre colaborou de forma direta e incansável antes, durante e depois nos trabalhos de inseminação.

Aos graduandos do LAPOC e do Laboratório de Reprodução Animal (UNICENTRO - Guarapuava), que sempre se disponibilizaram a ajudar nos exaustivos trabalhos de campo.

Aos amigos Rodrigo Teixeira e Laila Talarico, por todo incentivo, atenção e apoio técnico estatístico quando solicitados.

Aos proprietários, funcionários e técnicos das fazendas de criação de ovinos onde foram implantados os experimentos, que tiveram a compreensão das meticulosidades necessárias no manejo dos animais para perfeita execução experimental.

Ao Centro de Investigación Y Tecnologia Agroalimentaria de Aragón (CITA – Zaragoza/Espanha), aos orientadores Dr. José Folch Pera e Dr. José Luis Alabart, aos colegas Rene, Belém, Peluce, Pilar e Alberto e a todos os funcionários e técnicos e pela recepção, atenção, amizade e aprendizado durante o período de estágio sanduíche no exterior.

Ao professor Dr. Augusto Hauber Gameiro e a zootecnista Dra. Camila Raineri da Universidade de São Paulo, por disponibilizar da planilha de análise econômica e colaboração direta nas análises de custo que compõe um dos capítulos.

A todas as pessoas que ajudaram de forma direta ou indireta nos experimentos, mas que por minha falta de lembrança não foram citados.

A minha mãe Sonia Bressan, e a mãe da minha querida esposa Alda, Nice Gomes da Costa Monteiro, pela dedicação, amor, carinho, conforto e convívio dispensados ao nosso filho Arthur, durante o curto, porém infundável período em que estávamos do outro lado do oceano Atlântico, cumprindo com o nosso compromisso profissional. Meu mais sincero Muito Obrigado!

EPÍGRAFE

“A palavra não foi feita para enfeitar ou brilhar como ouro falso. A palavra foi feita para
dizer”.

Graciliano Ramos

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURA

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	3
 CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	 5
1.Introdução.....	5
1.1.Hipótese Científica.....	7
1.2.Objetivo.....	7
1.2.1.Objetivo Geral.....	7
1.2.2.Objetivo Específico.....	7
2. Revisão de Literatura.....	8
2.1. Estacionalidade Reprodutiva em Ovinos.....	8
2.2. Aspectos relacionados à inseminação artificial cervical superficial, transcervical e intrauterina.....	11
2.3. Modalidades de sêmen utilizadas na inseminação artificial.....	14
2.4. Duração do protocolo hormonal para sincronização de cios visando à inseminação artificial.....	17
2.5. Efeito da idade na resposta à sincronização de cios em ovinos.....	22
2.6. Impacto de biotecnologias reprodutivas no custo de produção de cordeiros.....	23
3.Referências.....	25
4. Relato dos Ensaios Realizados.....	35
 CAPÍTULO II - ADIÇÃO DE PLASMA SEMINAL AO SÊMEN DESCONGELADO E A TAXA DE PRENHEZ DE OVELHAS INSEMINADAS EM TEMPO FIXO.....	 44
Resumo.....	44
Abstract.....	44
1.Introdução.....	45

2.Material e Métodos.....	46
3.Resultados e Discussão.....	49
4.Conclusão.....	51
5.Referências.....	51
CAPÍTULO III - PROTOCOLO HORMONAL CURTO E LONGO SOBRE A FERTILIDADE DE FÊMEAS OVINAS INSEMINADAS EM TEMPO FIXO POR LAPAROSCOPIA COM SÊMEN CONGELADO.....	53
Resumo.....	53
Abstract.....	53
1.Introdução.....	54
2.Material e Métodos.....	55
3.Resultados e Discussão.....	59
4.Conclusão.....	63
5.Referências.....	63
CAPÍTULO IV - DESEMPENHO REPRODUTIVO DE OVELHAS DA RAÇA IDEAL SUBMETIDAS À SINCRONIZAÇÃO DE CIOS COM PROGESTÁGENO POR 6 OU 12 DIAS E INSEMINADAS EM TEMPO FIXO DURANTE A ESTAÇÃO REPRODUTIVA.....	66
Resumo.....	66
Abstract.....	67
1.Introdução.....	67
2.Material e Métodos.....	69
3.Resultados e Discussão.....	70
4.Conclusão.....	73
5.Referências.....	73
CAPÍTULO V – PROTOCOLO HORMONAL CURTO OU LONGO DE INDUÇÃO DE CIOS E FERTILIDADE DE BORREGAS WHITE DORPER X SUFFOLK INSEMINADAS EM TEMPO FIXO NA CONTRA ESTAÇÃO REPRODUTIVA.....	76
Resumo.....	76
Abstract.....	76
1.Introdução.....	77

2.Material e Métodos.....	78
3.Resultados e Discussão.....	80
4.Conclusão.....	83
5.Referências.....	83
CAPÍTULO VI - ANÁLISE DE CUSTO DE PROTOCOLOS DE	
SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E TÉCNICAS DE INSEMINAÇÃO	
ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO PARA BORREGAS NA ESTAÇÃO E	
NA CONTRA ESTAÇÃO REPRODUTIVA.....	
	85
Resumo.....	85
Abstract.....	85
1.Introdução.....	86
2.Material e Métodos.....	87
3.Resultados e Discussão.....	92
4.Conclusão.....	100
5.Referências.....	100
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	104

LISTA DE QUADROS E FIGURAS

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Quadro 1. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Suffolk inseminadas em abril de 2010, em Curitiba, PR. (LAPOC/UFPR).....	36
Quadro 2. Percentual de prenhez (%) de borregas Ile de France x Texel inseminadas em setembro de 2010, em Guarapuava, PR.....	36
Quadro 3. Percentual de prenhez (%) de borregas Suffolk inseminadas em setembro de 2010, em Curitiba (LAPOC/UFPR).....	37
Quadro 4. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Texel inseminadas em outubro de 2010, em Guarapuava, PR.....	37
Quadro 5. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Ile de France inseminadas em outubro de 2010, em Reserva, PR.....	38
Quadro 6. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Suffolk em lactação inseminadas em dezembro de 2010, em Curitiba (LAPOC/UFPR).....	38
Quadro 7. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Ile de France inseminadas em dezembro de 2010, em Guarapuava, PR.....	39
Quadro 8. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Suffolk inseminadas em março de 2011, em Curitiba (LAPOC/UFPR).....	39
Quadro 9. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Texel inseminadas em março de 2011, em Cândói, PR.....	39
Quadro 10. Percentual de prenhez (%) de borregas Suffolk inseminadas em março de 2011, em Curitiba (LAPOC/UFPR).....	40
Quadro 11. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Texel x Suffolk inseminadas em maio de 2011, em Londrina, PR.....	41
Quadro 12. Percentual de prenhez (%) de borregas Dorper x Suffolk inseminadas em outubro de 2011, em Curitiba (LAPOC/UFPR).....	41
Quadro 13. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Texel inseminadas em dezembro de 2011, em Castro, PR.....	42
Quadro 14. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Texel em lactação inseminadas em dezembro de 2011, em Castro, PR.....	42
Quadro 15. Percentual de prenhez (%) de ovelhas da raça Ideal submetidas a protocolo hormonal curto e longo de indução de cio e inseminadas em dois horários	

após a retirada do pessário vaginal.....	43
--	----

**CAPÍTULO VI - ANÁLISE DE CUSTO DE PROTOCOLOS DE
SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E TÉCNICAS DE INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO PARA BORREGAS NA ESTAÇÃO E
CONTRA ESTAÇÃO REPRODUTIVA**

Figura 1. Percentual relativo dos itens componentes de custo por fêmea inseminada pela via cervical superficial ou intrauterina por laparoscopia.....	96
--	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II - ADIÇÃO DE PLASMA SEMINAL AO SÊMEN DESCONGELADO E A TAXA DE PREENHEZ DE OVELHAS INSEMINADAS EM TEMPO FIXO

Tabela 1. Percentual de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo fixo (IATF) pela via cervical, utilizando sêmen descongelado (SD), sêmen descongelado com adição de plasma seminal (SD+PS) e sêmen fresco diluído (SFD).....	49
Tabela 2. Percentual de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo fixo (IATF), pelas técnicas de laparoscopia e cervical, utilizando sêmen descongelado.....	50
Tabela 3. Percentual de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo fixo (IATF) pelas técnicas de laparoscopia e cervical.....	50

CAPÍTULO III - PROTOCOLO HORMONAL CURTO E LONGO SOBRE A FERTILIDADE DE FÊMEAS OVINAS INSEMINADAS EM TEMPO FIXO POR LAPAROSCOPIA COM SÊMEN CONGELADO

Tabela 1. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro, sobre a taxa de prenhez de ovelhas Texel inseminadas em tempo fixo (IATF) por laparoscopia com sêmen congelado na estação reprodutiva.....	61
Tabela 2. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro, sobre a taxa de prenhez de ovelhas Texel inseminadas em tempo fixo (IATF) por laparoscopia com sêmen congelado no final da contra estação reprodutiva.....	61
Tabela 3. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro sobre a taxa de prenhez de borregas Suffolk inseminadas em tempo fixo (IATF), por laparoscopia com sêmen congelado na estação reprodutiva.....	62
Tabela 4. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro sobre a taxa de prenhez de borregas Suffolk inseminadas em tempo fixo (IATF), por laparoscopia com sêmen congelado na contra estação reprodutiva.....	62

CAPÍTULO IV - DESEMPENHO REPRODUTIVO DE OVELHAS DA RAÇA IDEAL SUBMETIDAS À SINCRONIZAÇÃO DE CIOS COM

PROGESTÁGENO POR 6 OU 12 DIAS E INSEMINADAS EM TEMPO FIXO DURANTE A ESTAÇÃO REPRODUTIVA

Tabela 1. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro sobre a taxa de prenhez de ovelhas da raça Ideal inseminadas em tempo fixo (IATF) em dois horários, pela via cervical superficial com sêmen fresco diluído, na estação reprodutiva.....	71
--	----

CAPÍTULO V - PROTOCOLO HORMONAL CURTO E LONGO DE INDUÇÃO DE CIO E FERTILIDADE DE BORREGAS WHITE DORPER X SUFFOLK INSEMINADAS EM TEMPO FIXO NA CONTRA ESTAÇÃO REPRODUTIVA

Tabela 1. Expressão de cio (%) e percentual de prenhez de borregas White Dorper x Suffolk submetidas a protocolo hormonal curto e longo de indução de cio, e inseminadas em tempo fixo (IATF) pela via cervical superficial com sêmen fresco diluído.....	80
---	----

CAPÍTULO VI - ANÁLISE DE CUSTO DE PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E TÉCNICAS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO PARA BORREGAS NA ESTAÇÃO E CONTRA ESTAÇÃO REPRODUTIVA

Tabela 1. Taxa de fertilidade de borregas Suffolk, sincronizadas com protocolo curto (6 dias) ou longo (12 dias) e inseminadas em tempo fixo (IATF) por laparoscopia com sêmen descongelado durante a estação reprodutiva.....	93
Tabela 2. Fertilidade de borregas cruzas White Dorper/Suffolk submetidas a protocolo hormonal curto (6 dias) e longo (12 dias) de indução de cio, e inseminadas em tempo fixo (IATF) pela via cervical superficial com sêmen fresco diluído na contra estação reprodutiva.....	93
Tabela 3. Tempo total de manejo (minutos) para as atividades da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) via cervical e intrauterina para borregas Suffolk e cruzadas Dorper x Suffolk.....	93
Tabela 4. Custo total (R\$) da mão de obra para as atividades da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) via cervical e intrauterina para 29 borregas Suffolk e 37 cruzadas Dorper x Suffolk.....	95
Tabela 5. Componentes do custo e custo total (R\$) para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) via cervical e intrauterina para borregas Suffolk e cruzadas	98

Dorper x Suffolk.....

Tabela 6. Custo total (R\$) por cordeiro produzido a partir de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) via cervical e intrauterina para borregas Suffolk e cruzadas

Dorper x Suffolk..... 99

LISTA DE ABREVIATURAS

IA – inseminação artificial

IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo

FSH – hormônio folículo estimulante

LH – hormônio luteinizante

MAP – acetato de medroxiprogesterona

FGA – acetato de fluorogestona

CIDR – controlled internal drug release

PHL – protocolo hormonal longo

PHC – protocolo hormonal curto

ECC – escore de condição corporal

IM – intramuscular

SC – subcutâneo

EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE BORREGAS E OVELHAS SUBMETIDAS A PROTOCOLOS HORMONAIS DE CURTA E LONGA DURAÇÃO E INSEMINADAS EM TEMPO FIXO COM DIFERENTES METODOLOGIAS E TIPOS DE SÊMEN

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar a fertilidade dos rebanhos comerciais de ovinos do Estado do Paraná, dentro e fora da estação reprodutiva mediante a implementação de biotecnologias ao manejo reprodutivo, visando oferta regular de cordeiros para abate ao longo do ano e a eficiência econômica dos sistemas comerciais. Para tal, estão agrupados nesta tese vários experimentos realizados com ovelhas e borregas de diferentes raças, utilizando protocolos hormonais curto (PHC 6 dias) e longo (PHL 12 dias) e técnicas de inseminação artificial, cervical e intrauterina. Foram estudadas também algumas técnicas reprodutivas, como a adição de plasma seminal ao sêmen descongelado, e inseminação artificial em tempo fixo em diferentes horários. Além disso, o custo dos protocolos e das técnicas de inseminação foi analisado, considerando a comercialização do cordeiro. A variável de estudo foi sempre o percentual de prenhez (número de fêmeas prenhas em relação ao total de fêmeas inseminadas x 100). No primeiro capítulo, para 174 ovelhas cruza Texel, a taxa de prenhez com adição de plasma seminal ao sêmen descongelado (7,0%) não diferiu ($P>0,05$) do tratamento sem adição de plasma (4,3%), entretanto foi inferior ($P<0,05$) se comparada à taxa de prenhez das ovelhas sob inseminação via cervical superficial com sêmen fresco diluído (50,0%) e inseminação via laparoscopia com sêmen descongelado (39,4%). A fim de avaliar a taxa de prenhez de ovelhas e borregas submetidas a protocolos hormonais para sincronização de estro de curta e longa duração, e inseminadas em tempo fixo durante a estação e contra estação reprodutiva, foram avaliadas 144 fêmeas, sendo 96 ovelhas da raça Texel (2 a 6 anos) e 48 borregas das raças Suffolk (15 a 18 meses) em quatro experimentos: 1) ovelhas Texel em estação reprodutiva; 2) ovelhas Texel em final de período de anestro sazonal; 3) borregas Suffolk em estação reprodutiva; 4) borregas Suffolk em anestro sazonal. Nesse caso, não houve diferença ($P>0,05$) na taxa de fertilidade entre os protocolos em nenhum dos 4 experimentos, no entanto, diferença ($P<0,05$) na taxa de fertilidade na resposta com diferentes categorias de ovelhas e de borregas foi notada. Ainda, foram estudadas 116 ovelhas da raça Ideal sob os protocolos hormonais, curto e longo em dois horários de inseminação artificial em tempo fixo. Não

houve diferença ($P>0,05$) para percentual de prenhez entre ovelhas do PHC e PHL (25,2% e 35,3%, respectivamente). Entretanto, as ovelhas inseminadas entre 55h e 30 min e 58h 30min após a remoção dos pessários, apresentaram menor ($P<0,05$) percentual de prenhez (PHC=16,6%; PHL=28,3%) do que as inseminadas entre 58h 30 min e 61h e 30 min (PHC=32,7%; PHL=42,9%). Outras 37 borregas White Dorper (WD) x Suffolk foram inseminadas em tempo fixo e repassadas em monta com carneiro fora da estação reprodutiva. Após duas semanas da IATF, as borregas foram repassadas por monta natural por 14 dias com o reprodutor WD. Nesse ensaio, não houve diferença ($p>0,05$) entre a apresentação de cio e taxa de prenhez das borregas submetidas aos protocolos hormonais, curto e longo. Finalmente, a análise de custos de dois dos experimentos descritos: 1) março/2011 (estação reprodutiva) com 29 borregas submetidas a protocolo curto ($n=15$) e longo ($n=14$) e inseminadas em tempo fixo por laparoscopia com sêmen descongelado; e 2) outubro/2011 (contra estação) com 37 borregas submetidas a protocolo curto ($n=20$) e longo ($n=17$) e inseminadas em tempo fixo por via cervical superficial com sêmen fresco diluído, onde foi encontrada diferença no custo total do cordeiro produzido entre os protocolos hormonais e técnicas de inseminação. A mão de obra (47,4%) e os medicamentos para sincronização (33,8%) foram os componentes mais relevantes no custo total. O protocolo hormonal curto associado à inseminação artificial cervical com sêmen fresco diluído apresentou o menor custo por cordeiro produzido. Para obtenção de taxas de prenhez satisfatórias com inseminação artificial, os protocolos hormonais curtos de sincronização de estro são mais indicados para borregas e ovelhas em estação reprodutiva e para borregas em anestro. Já em anestro sazonal, os protocolos hormonais longos são mais indicados para fêmeas múltiparas. A inseminação artificial cervical proporciona prenhez satisfatória ao menor custo por cordeiro produzido.

Palavras chave: inseminação artificial, sêmen, categoria animal, análise econômica

REPRODUCTIVE EFFICIENCY OF EWES AND EWE LAMBS UNDER SHORT AND LONG HORMONAL PROTOCOLS AND INSEMINATED AT FIXED TIME BY DIFFERENT METHODS AND KINDS OF SEMEN

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the fertility of sheep commercial flocks in the State of Paraná, inside and outside of the breeding season by implementing technologies to reproductive management to reach regular supply of lambs for slaughter during the year and the economic efficiency of commercial farms. To that, this thesis has grouped several experiments with ewes and lamb ewes of different breeds, hormonal protocols using short (SHP, 6 days) and long (LHP, 12 days) and artificial insemination techniques, cervical and intrauterine. We also have studied some other reproductive techniques, such as the addition of seminal plasma to thawed semen and fixed time artificial insemination at different moments. Furthermore, the cost of the protocols and the techniques for insemination was analyzed considering the commercialization of lambs. The variable of study was the pregnancy rate (number of pregnant females to total females inseminated x 100). In the first chapter, considering 174 Texel cross ewes, the pregnancy rate with the addition of seminal plasma to thawed semen (7.0%) did not differ ($P > 0.05$) of treatment without addition of plasma (4.3%), however was lower ($P < 0.05$) compared to the pregnancy rate of ewes via superficial cervical insemination with fresh semen diluted (50.0%) and insemination with frozen-thawed semen by laparoscopy (39.4%). In order to evaluate the pregnancy rate of ewes and ewe lambs undergoing hormonal protocols for synchronization of estrus, of short and long term, and inseminated at fixed time during the season and out of reproductive season, 144 females were evaluated, 96 Texel ewes (2-6 years) and 48 Suffolk ewe lambs (15 to 18 months) in four experiments: 1) Texel ewes in the breeding season, 2) Texel ewes in late anoestrus seasonal period, 3) Suffolk lambs in breeding season; 4) seasonal aneustrous Suffolk ewe lambs. In this case, there was no difference ($P > 0.05$) in the fertility rate among the protocols in any of the four experiments; however, the fertility rate differed ($P < 0.05$) in response to different classes of sheep and lambs. Also we studied 116 Polwarth ewes under hormonal protocols, short and long ones, using fixed-time artificial insemination. There was no difference ($P > 0.05$) for pregnancy rate among ewes of short and long (25.2% and 35.3%, respectively) protocols. However, ewes inseminated between 55h 30 min and 58h 30min after removal of pessaries

presented lower ($P < 0.05$) pregnancy rate (SHP = 16.6%; LHP = 28.3%) than those inseminated between 58h 30 min and 61h 30 min (SHP = 32.7%; LHP = 42.9%). Further, 37 White Dorper (WD) x Suffolk ewe lambs were inseminated at fixed time and passed on with ram outside of the breeding season. After two weeks of insemination, the lambs were submitted to natural service for 14 days with the WD male. In this trial, there was no difference ($p > 0.05$) between the presentation of estrus and pregnancy rate of ewe lambs subjected to hormonal protocols. Finally, the analysis of cost of two of that previous experiments were performed: 1) March/2011 (breeding season) with 29 lambs subjected to short protocol ($n = 15$) and long ($n = 14$) and fixed-time inseminated by laparoscopy with thawed semen and 2) October/2011 (out of season) with 37 lambs subjected to short protocol ($n = 20$) and long ($n = 17$) and inseminated at fixed time by cervical surface with fresh diluted semen. We have gotten different total cost for lambs produced from different hormonal protocols and insemination techniques. The labor force (47.4%) and drugs for synchronization (33.8%) were the most important components in the total cost. The short protocol associated with cervical artificial insemination with fresh semen diluted had the lowest cost per lamb produced. To obtain satisfactory pregnancy rates with artificial insemination, the short hormonal protocols for induction and synchronization of estrus are the best option for ewe lambs or ewes, and for ewe lambs in anestrus season too. Already, the long hormonal protocols are best suited for multiparous females at anestrus time. Cervical artificial insemination provides satisfactory pregnancy rate at the lowest cost per lamb produced.

Keywords: artificial insemination, semen, animal category, economic analysis

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1.Introdução

A ovinocultura brasileira é responsável pelo maior rebanho presente na América do Sul, totalizando 17,6 milhões de cabeças. O rebanho no Estado do Paraná é composto de 643 mil cabeças, predominando animais cruzados e especializados para produção de carne (IBGE, 2011). A atividade tem-se mostrado promissora, tendo o rebanho ovino brasileiro crescido cerca de 20% em efetivo na última década (de 14,6 a 17,6 milhões, de acordo com IBGE, Séries históricas, 2011), sendo considerada alternativa de diversificação e, conseqüentemente, mais uma fonte de renda em pequenas e médias propriedades rurais. Caracteriza-se basicamente pela produção de carne, além de lã e pele, em ciclo produtivo curto com cerca de 9 meses, o que deve permitir rápido retorno do capital investido, quando comparada com outras atividades como a bovinocultura de corte, cujo ciclo de produção pode chegar a 3 anos.

O sabor e o valor nutritivo da carne de cordeiro têm atraído cada vez mais adeptos no Brasil e em todo mundo, principalmente em restaurantes sofisticados, nos quais a exigência dos consumidores e o valor pago ao produto são maiores. Entretanto, pode-se afirmar que em todo o território nacional, a ovinocultura continua sendo atividade produtiva dependente dos “espaços deixados pelos bovinos”, e praticamente inexistem frigoríficos especializados no abate e no preparo de cortes especiais da carne ovina.

A partir do ano 2000, houve aumento na motivação dos ovinocultores brasileiros, com melhores possibilidades de comercialização para seu rebanho, a partir da formação, a princípio, de grupos comerciais privados que realizavam a compra desses animais nas diferentes Regiões. Mesmo assim, o preço recebido pelos produtores mantinha-se bem abaixo do desejado, considerando os custos de produção dos cordeiros (BARROS, 2008), com situações extremas em que o preço pago por kg de cordeiro ao produtor alcançava cerca de 60% do custo de produção no início dos anos 2000. No entanto, esse preço tem melhorado bastante nos últimos 5 anos, em toda a Região Sul e Sudeste, variando entre R\$ 4,50 a R\$ 6,00, na entressafra.

No Estado do Paraná, a partir de 2003, alguns grupos de produtores de rebanhos comerciais para produção de carne se organizaram em associações/cooperativas após a proposição do Programa de Estruturação das Cadeias Produtivas da Caprinocultura e Ovinocultura, lançado pela SEAB-PR. Vários grupos de produtores iniciaram

organização própria, escalonando a produção dos cordeiros, viabilizando os abates e a comercialização, mesmo que em escala local. Exemplos desses grupos que estão em atividade são COOPERALIANÇA (Cooperativa Agroindustrial Aliança de Carnes Nobres Vale do Jordão – Guarapuava-PR); COOPERCAPANNA (Cooperativa Agroindustrial Capanna – Londrina-PR); CASTROLANDA (Cooperativa Agropecuária Castrolanda – Castro-PR); COOPERCARNES (Cooperativa de Produtores de Carnes Nobres do Sudoeste do Paraná – Francisco Beltrão-PR); OVINOMAR (Associação dos Criadores de Ovinos da Região de Maringá – Maringá-PR); C-Vita (Cooperativa de Produtores de Cascavel).

Com a formação desses grupos se iniciou um processo contínuo e legalizado de abate de cordeiros no Estado, com peso (entre 38 e 42 kg de peso vivo) e grau de acabamento (escore de condição corporal entre 3 e 4) pré-estabelecidos nas diversas regiões do Estado; porém, um dos grandes desafios enfrentados por estes produtores para a sustentabilidade da atividade é manter oferta contínua de produto carne durante todo o ano, evitando a escassez em algumas estações (outono e inverno).

A irregularidade da oferta da carne de cordeiro no decorrer do ano se deve a vários fatores inerentes aos sistemas de produção, porém, o de maior impacto refere-se à estacionalidade reprodutiva das ovelhas das raças especializadas na produção de carne, criadas na região Sul do Brasil. Este período de estacionalidade reprodutiva está diretamente relacionado com a quantidade de horas de luz diárias e ocorre naturalmente para a maioria das raças de carne quando os dias se apresentam longos (primavera – verão), tornando-se a atividade reprodutiva regular quando os dias tornam-se curtos (outono – inverno). Este fenômeno se estabelece por mecanismos neuro-endócrinos que regulam a atividade reprodutiva das ovelhas, fazendo com que a secreção do hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH) pelo hipotálamo, se torne insuficiente para estimular a síntese de hormônios gonadotrópicos, dentre eles o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH), responsáveis pelo processo de crescimento e maturação do folículo ovulatório e pela ovulação, respectivamente. A principal consequência do anestro reprodutivo nos ovinos é a grande oferta de carne de cordeiro concentrada normalmente nos meses de novembro e dezembro, e o comprometimento do fornecimento deste produto entre os meses de abril a setembro.

A implantação de programas hormonais durante os períodos de anestro reprodutivo, com administração exógena de prostaglandinas associadas aos progestágenos para indução de cio e ovulação nas ovelhas, pode influenciar fortemente

a oferta regular de carne de cordeiros para o mercado consumidor durante todo o ano, incentivando o consumo do produto e colaborando com a manutenção da ovinocultura comercial no país.

1.1. Hipótese Científica

Protocolos de indução e sincronização de estro a base de progestágenos associados com técnicas de inseminação artificial em tempo fixo podem melhorar as taxas de fertilidade dos rebanhos ovinos dentro e fora da estação reprodutiva e, aumentar a oferta de cordeiros para atender a regularidade de abate e oferta de carne durante o ano.

1.2. Objetivo

1.2.1. Objetivo Geral: Avaliar a fertilidade dos rebanhos comerciais de ovinos, dentro e fora da estação reprodutiva por mediante a implementação de biotecnologias ao manejo reprodutivo, visando oferta regular de cordeiros para abate ao longo do ano e a eficiência econômica dos sistemas reprodutivos.

1.2.2. Objetivos Específicos:

- Investigar protocolos hormonais curtos (PHC) e longos (PHL) na indução e sincronização de cio de borregas e ovelhas de raças especializadas na produção de carne, dentro e fora da estação reprodutiva;
- Avaliar o efeito da adição de plasma seminal ovino ao sêmen descongelado sobre o percentual de prenhez de ovelhas inseminadas por via cervical superficial;
- Comparar o percentual de prenhez de fêmeas ovinas de acordo com a modalidade de sêmen utilizada (fresco diluído, refrigerado e descongelado) e o local de deposição (cervical superficial, intra-uterina via transcervical e intra-uterina por laparoscopia) mediante inseminação artificial;
- Avaliar os custos e o resultado econômico da aplicação dos protocolos, curto e longo, e das técnicas de inseminação artificial dentro e fora da estação reprodutiva.

O presente trabalho de tese constitui-se de 6 Capítulos, que foram escritos no formato de artigos para publicação em periódicos. O capítulo um está composto pela introdução, revisão de literatura sobre o assunto e um breve relato de todos os ensaios realizados

para a composição deste trabalho. O segundo capítulo intitula-se Adição de plasma seminal ao sêmen descongelado e a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo fixo e corresponde ao artigo que está publicado na Revista Arquivos de Medicina Veterinária e Zootecnia, conforme Anexo; o terceiro capítulo intitulado Protocolo hormonal curto e longo sobre a fertilidade de fêmeas ovinas inseminadas em tempo fixo por laparoscopia com sêmen congelado; o quarto capítulo intitula-se Desempenho reprodutivo de ovelhas da raça Ideal submetidas à sincronização de cios com progestágenos por 6 ou 12 dias e inseminadas em tempo fixo durante a estação reprodutiva. O capítulo 5 contempla o artigo intitulado Protocolo hormonal curto e longo de indução de cios e fertilidade de borregas White Dorper x Suffolk inseminadas em tempo fixo na contra estação reprodutiva. O sexto capítulo é intitulado Análise de custo de protocolos de sincronização de estro e técnicas de inseminação artificial em tempo fixo para borregas na estação e contra estação reprodutiva. Ao término, encontram-se as Considerações finais, referentes ao conjunto dos conteúdos estudados.

2. Revisão de Literatura

2.1. Estacionalidade Reprodutiva em Ovinos

A reprodução constante durante o ano é característica extremamente desejável para as espécies de animais domésticos destinados a produção de alimentos. Entretanto, algumas não apresentam ciclos reprodutivos regulares, como os ovinos, que intercalam épocas de atividade reprodutiva normal com períodos de ausência de reprodução. Este mecanismo é uma estratégia reprodutiva que restringe a reprodução para a melhor época do ano, garantindo que os nascimentos ocorram em períodos que possibilitem o máximo crescimento e desenvolvimento da prole e o suporte nutricional para a lactação da mãe (Wayne et al., 1989).

A ovelha é um animal poliétrico estacional com ciclos ovulatórios normais que ocorrem na maioria das raças, especialmente as originárias de clima temperado (Ortavant et al., 1988) no outono e no inverno, quando os dias estão mais curtos (Moraes et al., 2002; Bartlewski et al., 2011). As ovelhas criadas em ambientes tropicais próximos à linha do Equador são completamente não sazonais ou poliétricas intermitentes, pois sofrem menor ação do fotoperíodo; porém, fatores como a qualidade

e disponibilidade de alimentos e o estresse térmico podem interferir diretamente na atividade reprodutiva (Rosa et al., 2003; Simplício, 2008).

A sazonalidade reprodutiva na ovelha é caracterizada por alterações comportamentais, endócrinas e ovulatórias de forma absoluta, originando alternância anual entre dois períodos distintos, sendo um período de criação, caracterizado pela sucessão de intervalos regulares (média de 17 dias) de comportamento estral e ovulação, e caso não ocorra prenhez, uma estação de anestro que é caracterizada pela cessação da atividade sexual (Rosa et al., 2003).

O anestro estacional nos ovinos é mediado pelo fotoperíodo (horas de luz/horas de escuridão), onde as mudanças são percebidas pela retina, traduzidas em sinais nervosos e transmitidas a glândula pineal para que esta inicie a secreção de melatonina, imediatamente após o início do período de escuridão e se mantendo até o começo do período de luz (Karsch et al., 1984). O estradiol tem papel fundamental no controle da amplitude dos pulsos do hormônio luteinizante (LH), no período de alta secreção de melatonina (dias curtos/outono) com pouco efeito na frequência dos pulsos, condição diferente do período de baixa secreção de melatonina (dias longos/primavera), onde o estradiol é um potente supressor da frequência de pulsos de LH, com ação exercida diretamente no hipotálamo (Moraes et al., 2002). Karsch et al. (1993), avaliando amostras de sangue porta-hipofisário de ovelhas, demonstraram que durante o anestro sazonal o estradiol causa profunda supressão nos pulsos de GnRH, mas exerce pouco efeito na frequência do mesmo hormônio durante a estação reprodutiva.

Durante a época de reprodução em raças ovinas prolíficas e não prolíficas, normalmente ocorrem 3 ou 4 ondas de emergência folicular por intervalo inter-ovulatório, sendo este padrão associado a aumentos nas concentrações séricas de hormônio folículo estimulante (FSH) e estradiol, momentos antes da emergência da onda folicular. Já ao final da fase de crescimento dos maiores folículos ($\geq 5\text{mm}$), são encontrados picos séricos de estradiol (Bartlewski et al., 2011), sendo estes responsáveis pela manifestação do comportamento de estro nas fêmeas ovinas.

A atividade ovulatória e o comportamento de estro apresentam variações sazonais paralelas. No entanto, existem algumas discrepâncias no início e no fim da estação sexual, quando algumas ovulações ocorrem sem estro (Ortavant et al., 1988). A transição para a estação reprodutiva a partir do período de anestro estacional é gradual, com a ocorrência de ciclos curtos, porque o primeiro corpo lúteo muitas vezes regride prematuramente 5 a 6 dias após sua formação (Rosa et al., 2003).

Descrevendo a periodicidade reprodutiva, Bartlewski et al. (2011) afirmam que o comprimento do ciclo estral dos ovinos é notavelmente consistente durante toda a estação reprodutiva e ciclos de cerca de duas vezes o comprimento normal são ocasionalmente vistos em ovelhas cíclicas, sugerindo que tais ciclos refletem a incidência de dois ciclos normais de estro entre os quais poderia ter ocorrido falha no estro comportamental e/ou ovulação. Estudos de ultrassonografia têm demonstrado que ciclos anormais longos em ovelhas podem ser associados com tempo de vida prolongado do corpo lúteo (Bartlewski et al., 1999a).

A sazonalidade reprodutiva também influencia negativamente os ovinos machos, porém a espermatogênese e a atividade sexual não param (Rosa et al., 2003), com melhoria desses parâmetros no final do verão e outono e diminuição no final do inverno e primavera (Pelletier et al., 1987). Os baixos níveis de melatonina fora da estação reprodutiva diminuem a atividade do eixo hipotálamo-hipófise na secreção de gonadotrofinas, comprometendo a qualidade espermática. Casao et al. (2009) encontraram níveis de melatonina significativamente inferiores ($P < 0,05$) no sêmen de carneiros da raça Aragonesa na primavera (23,8 pg/ml), quando comparados a outono (83,3 pg/ml) e inverno (72,8 pg/ml).

A sensibilidade dos carneiros ao fotoperíodo é diferente das ovelhas, pois apresentam atividade sexual normal de 1 a 1,5 meses antes do início do período cíclico das fêmeas, sendo esta característica importante para a atividade produtiva, pois as ovelhas podem ovular dentro de poucos dias após estimulação hormonal devido a presença de folículos de grande tamanho, mas os carneiros precisam de cerca de 45 dias para completar a espermatogênese (Rosa et al., 2003).

Com propósito de diminuir o efeito de estacionalidade reprodutiva nos ovinos, algumas estratégias têm sido descritas e aplicadas. A utilização de raças originárias de regiões próximas ao Equador, que apresentam estações sexuais mais longas (Merino e raças nativas brasileiras), do que raças com origem em maiores latitudes (Suffolk e Ile de France), tem sido uma das alternativas usadas (Lincoln et al., 1990; Bicudo, 1999).

Protocolos de indução e sincronização do estro com produtos de fonte variável de progesterona (natural ou sintética), em associação com outros hormônios como a prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) e gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Luther et al., 2007), além de implantes de melatonina (Abecia et al., 2007), também são usados para incrementar a ciclicidade nos rebanhos.

A nutrição e a consequente condição corporal dos indivíduos ou rebanhos, também influenciam diretamente a eficiência reprodutiva (Simplício et al., 2007), sendo que as inadequações nutricionais podem mostrar seus efeitos a curto, médio e longo prazo (Rosa et al., 2003), na secreção e na liberação de hormônios envolvidos na reprodução. A subnutrição de ovelhas no momento de emergência dos folículos primordiais reduz o número de folículos que ficam disponíveis para ovulação. A redução na taxa de ovulação pode ser prevenida com melhoria na nutrição por período de 10 a 15 dias antes do acasalamento, embora a janela crítica para o efeito estimulador de melhora na nutrição possa ser ainda menor que esse período (Robinson et al., 2006). Viñoles et al. (2009), testando curtos períodos de melhora nutricional, identificaram aumento na taxa de prolificidade de ovelhas Corriedade em pastejo de *Lotus corniculatus* quando os referidos períodos foram de 12 dias, e aumento na taxa de ovulação quando alimentadas com suplemento rico em energia e proteína por período de 7 dias.

2.2. Aspectos relacionados à inseminação artificial cervical superficial, transcervical e intrauterina

A inseminação artificial (IA) é a tecnologia reprodutiva com maior impacto sobre a criação de animais em todo o mundo e em espécies como bovinos e suínos há uma longa história de sucesso da indústria (Palacín et al., 2012). Na espécie ovina apresenta-se também como prática bastante antiga e utilizada por várias décadas, originalmente na União Soviética, com uso comercial em países do leste Europeu, França, Irlanda, Austrália, Nova Zelândia e muitos outros países (Evans, 1988).

Dentre os métodos de inseminação empregados nos rebanhos de ovinos, citam-se a inseminação vaginal (deposição do sêmen no fundo de saco da vagina), cervical superficial (sêmen depositado no primeiro anel cervical), intracervical (sêmen depositado na porção mediana da cérvix), transcervical (sêmen depositado na porção final da cérvix) e laparoscopia (deposição do sêmen diretamente no corno uterino) (Evans, 1988; Cseh et al., 2012).

A técnica ideal para a IA em qualquer espécie é a deposição intrauterina de espermatozoides via transcervical, pois esta técnica apresenta melhores resultados de fertilidade do que quando o sêmen é colocado em região vaginal ou distal do colo do útero (cérvix). Níveis de profundidade de penetração aproximando-se do útero são

necessários para obter taxas de concepção aceitáveis com sêmen criopreservado (King et al., 2004; Anel et al., 2006). Entretanto, a via transcervical, em função da anatomia do colo do útero, geralmente evita a passagem da pipeta de inseminação, dificultando assim a popularização da IA (Evans e Maxwell, 1987). As técnicas de inseminação via cervical, embora sejam alternativas de procedimentos não cirúrgicos, têm uso limitado pela estrutura do colo do útero dos ovinos (Cseh et al., 2012).

A cérvix dos ovinos é descrita como órgão longo, fibroso e tubular, composta predominantemente de tecido conjuntivo, com lúmen altamente tortuoso devido a presença de quatro a sete anéis cervicais, proporcionando uma barreira física para contaminantes externos, além de apresentar-se como principal barreira para a IA transcervical em função da falta de alinhamento e do estreito diâmetro do lúmen, especialmente nos primeiros três anéis, dificultando assim a inserção da pipeta de inseminação a profundidade superior a 1 cm (Kershaw et al., 2005).

Baseado no diâmetro do lúmen cervical, Kaabi (2002) desenhou vários cateteres para IA transcervical, cujas principais características foram o diâmetro mínimo, ponta excêntrica e rigidez (eficaz em progressão, porém traumático) que alcançaram elevadas proporções de passagem no colo do útero (60 a 85%); porém, os resultados de fertilidade eram baixos (10 a 40%), quando comparados à inseminação intrauterina pela técnica de laparoscopia (60%; Anel et al., 2005).

Com objetivo de alcançar o útero da ovelha sem causar traumas no colo do útero em quantidade de tempo mínima, algumas técnicas cervicais são descritas e caracterizadas como métodos físicos - com pinça hemostática inerente ao orifício cervical externo e retraindo a cérvix para alinhar a abertura cervical; estes são considerados traumáticos e de uso comercial limitado; métodos químicos - uso de substâncias para promover a dilatação da cérvix, como ocitocina, prostaglandina; método mecânico - cateteres que se adaptam a anatomia do colo do útero como a pipeta com ponta excêntrica, pipeta com ponta dobrada, pipeta helicoidal e cateter flexível (Anel et. al., 2006). Leethongdee et al. (2007), estudando o efeito da administração intracervical de hormônio folículo estimulante (FSH – 2 mg) e do Misoprostol (análogo de prostaglandina E – 1 mg) para aumentar a facilidade de penetração cervical (inseminação intrauterina transcervical) durante o período pré-ovulatório, verificaram que houve penetrabilidade em 100% das ovelhas, após 54 a 60 horas e 54 horas da aplicação de FSH e Misoprostol, respectivamente. Resultados semelhantes foram obtidos por Falchi et al. (2012), com administração intracervical de FSH, Misoprostol e

ocitocina associada ao efeito macho em cinco raças de ovinos, e observaram aumento da profundidade de penetração cervical de 48 a 54 horas após a remoção de pessários vaginais ($P<0,05$) em todas as raças.

Dentre as técnicas que usam a via cervical para IA em rebanhos comerciais de ovinos para produção de carne, atualmente a de maior eleição é a inseminação cervical superficial. Palacín et al. (2012) descrevem o uso da inseminação cervical superficial por meio de cateter de IA (IMV Technologies, L'Aigle, França) em 18.328 ovelhas da raça Aragonesa em 131 fazendas no norte da Espanha (UPRA – Carnes Oviaragón), nas quais o sêmen (diluído e refrigerado a 15° C) foi depositado no trato genital tão profundamente quanto possível, sem prejudicar o epitélio cervical com obtenção de taxa de fertilidade média de 52,6%. Resultados inferiores de fertilidade foram obtidos por Richardson et al. (2012), quando avaliaram o efeito do local de deposição do sêmen congelado na IA sobre a taxa de prenhez de 157 ovelhas de diferentes raças, e obtiveram 36,2% e 27,6% de prenhez pela via cervical superficial e fórnix vaginal, respectivamente. Resultados também inferiores foram obtidos por Naqvi et al. (1998), avaliando a penetrabilidade cervical (6 e 18 horas após o início do estro) e a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas (transcervical) com sêmen congelado, nas quais obtiveram 44,7% de taxa de penetração cervical e 22,7% de prenhez. Portanto, a contribuição da IA cervical para o melhoramento genético na ovinocultura com o uso de sêmen congelado atualmente é considerada limitada, principalmente devido à dificuldade em obter aceitáveis taxas de prenhez a partir dessa técnica (Richardson et al., 2011).

A inseminação artificial intrauterina pela técnica de laparoscopia, desenvolvida para viabilizar a possibilidade de utilização de sêmen congelado (Killen e Caffery, 1982; Ghalsasi e Ninbkar, 1996), é sem dúvida o mais significativo desenvolvimento de IA em ovinos, pois possibilita superar muitas das dificuldades da IA intravaginal ou intracervical, além de otimizar o número de espermatozoides necessários para a efetiva fertilização (Cseh et al., 2012). No entanto, esta técnica também apresenta limitações de uso, por ser procedimento cirúrgico que necessita equipamentos de alto custo e mão de obra especializada, restringindo sua aplicação para a maioria das propriedades de criação ovina (Evans e Maxwell, 1987). Entretanto, quando esta técnica é comparada a técnicas não invasivas, pode resultar em maiores taxas de prenhez com sêmen descongelado, aumentando o número de animais nascidos, o que poderia viabilizar economicamente seu uso em rebanhos comerciais, uma vez que a oferta regular do

produto carne, além do número de animais entregues ao abate, são aspectos muito importantes para o bom resultado do negócio.

Anel et al. (2005), comparando vários fatores que influenciavam a fertilidade a inseminação de 44.448 ovelhas da raça Churra, no norte da Espanha, obtiveram taxas de prenhez 20,66% superiores quando a inseminação artificial foi realizada por laparoscopia (60,33%; sêmen congelado) em comparação a técnica de IA cervical (39,67%; sêmen refrigerado a 15°C).

Ressalta-se também que as diferentes técnicas de inseminação descritas para aplicação em ovinos, muitas vezes são escolhidas em função dos diferentes tipos de sêmen disponíveis para uso comercial.

2.3. Modalidades de sêmen utilizadas na inseminação artificial

O principal desafio das células espermáticas logo após serem ejaculadas pelo carneiro e depositadas no trato genital da fêmea de forma natural (monta) ou artificial (inseminação artificial), é manter-se em condições viáveis para perfeita fertilização do oócito após a ovulação. Para tal, o gameta masculino deve deslocar-se através do trato genital feminino, onde deverá sofrer capacitação e reação acrossomal, ligar-se à zona pelúcida do ovócito e nela penetrar e, finalmente, promover a fusão de seu prónucleo com o feminino (Câmara e Guerra, 2011).

As primeiras tentativas de IA em ovinos envolveram apenas curtos intervalos de tempo entre a coleta de sêmen e a transferência para fêmeas receptoras, pois os espermatozoides têm tempo de sobrevivência limitado fora do trato reprodutivo em temperatura ambiente. Entretanto, para realização de grandes programas de IA, se faz necessária a preservação de espermatozoides em condições artificiais por longos períodos de tempo, o que pode ser conseguido somente com uso de métodos que diminuam o metabolismo dos espermatozoides com a redução de temperatura para outros meios (armazenamento líquido), ou com parada completa no tempo dos processos metabólicos (armazenamento congelado) e assim prolongar sua vida fértil. (Salamon e Maxwell, 1995; Gillan et al., 2004). Objetivando a expansão da utilização da IA como ferramenta para melhora genética de rebanhos ovinos, diferentes formas de preservação do sêmen de carneiro (fresco diluído, refrigerado e congelado) são propostas (Evans e Maxwell, 1987; Tsakmakidis, 2010).

Considerando que o ejaculado dos ovinos é caracterizado pelo pequeno volume (0,8 a 1,2 ml), alta concentração (1,6 a 3,6 bilhões de espermatozóides), e por não permitir altas taxas de diluição (sem causar efeitos deletérios sobre a taxa de sobrevivência dos espermatozóides), quando comparado ao sêmen de bovinos (Salamon e Maxwell, 1995; Evans e Maxwell, 1987), extensas revisões foram feitas nos últimos anos para estudo de diluentes e técnicas de preservação do sêmen de pequenos ruminantes (Maxwell e Salamon, 1993; Salamon e Maxwell, 2000), pois a viabilidade do espermatozoide no trato reprodutivo da fêmea também é afetada pela preservação (Gillan et al., 2004).

Como os processos de preservação por refrigeração e congelamento submetem o sêmen ejaculado ao rebaixamento da temperatura que normalmente está em 37° C para 5° C e -196° C (Tsakmakidis, 2010), os meios diluidores devem proporcionar nutrientes como fonte de energia, proteger do efeito prejudicial do resfriamento rápido, propiciar tamponamento controle do pH, manter a pressão osmótica e equilíbrio eletrolítico, inibir crescimento bacteriano, proteger as células espermáticas durante a congelação e aumentar o volume, propiciando múltiplas inseminações (Hafez e Hafez, 2004).

Entre os meios diluentes usados para preservação do sêmen ovino, são descritos os a base de citrato (tamponante), cuja composição adiciona citrato de sódio (2,37 g), glicose (0,5g), gema de ovo (15 ml), antibióticos (100.000 UI penicilina; 100 mg de estreptomicina), e água destilada (Salamon e Maxwell, 2000), e diluentes a base de Tris (hidroximetilaminometano) que são compostos de Tris (3,63 g), frutose (0,5 g), ácido cítrico (1,99 g), gema de ovo (14 ml), antibióticos (100.000 UI penicilina; 100 mg de estreptomicina), e água destilada (Evans e Maxwell, 1987). Os compostos citados apresentam ação tamponante, fornecimento de energia para o metabolismo espermático e manutenção da motilidade, preservação das células contra o choque por frio, redução da perda de enzimas acrossomais, prevenção de alterações degenerativas no acrossoma e de infecções bacterianas (Salamon e Maxwell, 2000).

Atualmente (Cseh et al., 2012), essas composições são descritas como diluentes rotineiramente utilizados a base de Tris (Tris – glicose – gema de ovo; Tris – citrato – frutose – gema de ovo) para diluir sêmen ovino por apresentar bons resultados de fertilidade após IA. Paulenz et al. (2002), avaliando o efeito de 4 diluentes (leite; citrato de sódio; Tris-frutose-ácido cítrico; Tris comercial – todos acrescidos de gema de ovo) sobre a motilidade, integridade de membrana e acrossoma, e *status* de capacitação de espermatozoides em ovinos adultos, concluíram que os diluentes a base de Tris

preservam melhor a viabilidade espermática do que as outras composições testadas, quando o líquido foi armazenado por 30 horas a temperatura de 5 e 20° C.

Considerando a temperatura de armazenamento do sêmen dos ovinos, entre os métodos que proporcionam resultados aceitáveis de fertilidade em IA estão a refrigeração entre 5 e 15°C (inseminação vaginal/intracervical) e o congelamento a -196 (inseminação intrauterina por laparoscopia) (Anel et al., 2006). O sêmen diluído e refrigerado entre 5 e 15°C deve ser preferencialmente usado entre 8 a 10 horas após a coleta, pois há declínio gradual da fertilidade durante o armazenamento (Yañiz et al., 2005; Cseh et al., 2012), o que limita seu uso em rebanhos que estão distantes dos centros de coleta e processamento (Palacín et al., 2012). Entretanto, O'Hara et al., (2010) indicam que o armazenamento de sêmen ovino refrigerado a 5°C mantém aceitável motilidade e viabilidade até 72 horas, quando comparado a 15°C.

Devido à anatomia particular do canal cervical das fêmeas de ovinos, a dose inseminante deve conter volume limitado (<0,25 ml), e número relativamente grande de espermatozoides para deposição vaginal (400×10^6 espermatozoides) e cervical superficial (200×10^6 espermatozoides), evitando assim o menor refluxo possível (Cseh et al., 2012). Gillan et al. (2004) sugerem o mínimo de 100 milhões de espermatozoides móveis presentes no sêmen fresco para adequada taxa de fertilidade quando depositados na via cervical.

O processo de criopreservação, embora suspenda a atividade dos espermatozoides, apresenta algumas desvantagens, como a redução da integridade da membrana plasmática e acrossômica, formação de gelo intracelular, desidratação celular, capacitação antecipada, redução da população espermática, da motilidade e, portanto compromete a capacidade de fertilização (Ollero et al., 1998; Gillan et al., 1999; Salamon e Maxwell, 1995; Leahy et al., 2010). O glicerol é a substância mais utilizada nos diluentes para proteção dos espermatozoides durante o processo de congelamento e sua concentração ótima deve estar entre 4 e 6 %, pois apresenta efeito tóxico às células espermáticas quando em concentrações maiores (Salamon e Maxwell, 2000).

A fertilidade do sêmen armazenado em meio líquido ou congelado é prejudicada pela formação das espécies reativas ao oxigênio (ROS), que são produtos tóxicos do metabolismo, a partir da peroxidação lipídica da membrana dos espermatozoides. A adição de substâncias antioxidantes (superóxido dismutase – SOD; catalase – CAT; citocromo C; peroxidase glutational) aos diluentes resultam em manutenção da

motilidade e integridade acrossômica e fertilidade aceitável no sêmen resfriado e armazenado por 8 a 10 dias (Salamon e Maxwell, 2000).

Considerado um antioxidante fisiológico (Stradaoli et al., 2007), com efeito tamponante (Evans e Maxwell, 1987), e tendo proteínas como principal componente, o plasma seminal também é responsável pelo transporte, suplementação e sobrevivência dos espermatozoides presentes no ejaculado; porém, durante os processos de preparação *in vitro* (lavagem, diluição, resfriamento, congelamento e reaquecimento) dos espermatozoides para inseminação artificial, há redução da quantidade deste componente (Leahy e Graaf, 2012). Maxwell et al. (2007) mostraram que a inclusão de plasma seminal ao diluente de congelamento melhora a integridade de membrana e motilidade do sêmen pós-descongelamento. Entretanto, Rocha et al. (2011) não observaram diferença significativa ($p < 0,05$) na motilidade total e vigor nas amostras de sêmen descongeladas e incubadas por 15 minutos, na presença ou ausência de plasma seminal.

Outros estudos devem ser realizados a fim de contribuir com a diminuição dos danos causados às células espermáticas, durante os processos de preservação, especialmente pelo método de congelamento.

2.4. Duração do protocolo hormonal para sincronização de cios visando à inseminação artificial

A utilização de hormônios para indução de estro tem permitido aumento do uso da inseminação artificial em pequenos ruminantes, como ferramenta útil ao manejo, considerando-se a dificuldade de detecção do estro nas espécies, além de permitir o controle de parição com posterior sincronização do desmame e do abate dos cordeiros, e uso eficiente da mão de obra e instalações (Abecia et al., 2012).

Diversos métodos para controle da reprodução de ovinos foram desenvolvidos, sendo que alguns são baseados na utilização de progesterona e seus análogos, com manipulação da fase luteal do ciclo estral por ser esta fase a de maior duração e de maior capacidade de resposta à manipulação (Wildeus, 2000).

Progesterona e progestágenos são amplamente utilizados para induzir o estro durante a contra estação reprodutiva (Ungerfeld e Rubianes, 1999), como também para sincronizar o estro durante a estação natural de monta (Fukui et al., 1999). Esses métodos resultam em sincronização de estro a partir do decréscimo na concentração de

progesterona circulante após remoção dos dispositivos, entretanto o tempo para ovulação é variável e dependente do estágio de desenvolvimento folicular no momento da remoção do progestágeno (Roche et al., 1999). No eixo hipotálamo-hipófise, a progesterona exerce controle inibitório sobre a frequência de pulso basal de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), que é responsável pela diminuição da pulsatilidade de hormônio luteinizante (LH). Este efeito tem grande importância para enriquecer as células gonadotróficas da pituitária em hormônio folículo estimulante (FSH), necessário durante a próxima transição da fase luteal para a fase folicular para desencadear o recrutamento de novos folículos ovarianos (Chabbert-Buffet et al., 2000).

A progesterona utilizada comercialmente nos rebanhos de ovinos apresenta-se na sua forma natural impregnada em silicone, conhecida como CIDR (*controlled internal drug release*) e contém 330 mg/dispositivo (Welch et al., 1984), ou como análogo (progestágeno) impregnada em pessário vaginal de poliuretano contendo acetato de fluorogestona (FGA - 20 a 30 mg/esponja) e acetato de medroxiprogesterona (MAP - 60 mg/esponja; Wildeus 2000). O acetato de melengestrol (MGA) é outra progesterona sintética de administração oral para indução de cio em ovinos e caprinos (Abecia et al., 2012). O norgestomet também é uma progesterona sintética utilizada em ovinos e apresenta-se como implante auricular (1,5 mg/implante; Uslu et al., 2012) usado por período de 14 dias (Luther et al., 2007). Martins et al. (2010) descrevem a utilização de tampão vaginal humano (OB[®]), impregnado com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona como produto higiênico, de baixo custo, prático e efetivo na sincronização de cio em ovinos.

Substâncias que induzem a atividade ovariana são utilizadas em associação com progestágenos na estação reprodutiva ou no anestro estacional, em protocolos de indução e sincronização de estro e ovulação em ovinos (Moraes et al., 2002). A gonadotrofina coriônica equina (eCG), anteriormente conhecida como gonadotrofina sérica de égua prenhe (PMSG), é um hormônio glicoproteico placentário preparado a partir do soro de égua prenhe e possui atividades similares a FSH e LH para indução da foliculogênese (Donrov et al., 1998; Abecia et al., 2012).

Luther et al. (2007) relatam que, em protocolos a base de progestágenos (MAP, FGA) e progesterona (CIDR), quando utilizados em associação com 400 UI de eCG, este pode favorecer a elevação das taxas de prenhez em rebanhos ovinos. A resposta ovariana, a concentração de estradiol, bem como a taxa de prenhez apresentam-se eficazes ($P<0,05$) em doses de 550 a 650 UI de eCG, quando administradas em ovelhas

após tratamento com progesterona (CIDR) por 14 dias, e inseminadas durante a estação reprodutiva (Moakhar et al., 2012). Entretanto, em pequenas quantidades de PMSG (250 UI), quando administradas no momento da remoção dos progestágenos durante a estação reprodutiva, podem não apresentar influência sobre a taxa de fertilidade e prolificidade, pois estas quantidades talvez não sejam suficientes para induzir um estímulo adicional no desenvolvimento folicular (Romano et al., 1996). Zeleke et al. (2005), concluíram que a administração subcutânea de 300 UI de PMSG 24 horas antes da retirada de esponjas (60 mg de MAP ou 40 mg FGA por 14 dias), proporcionam maiores ($P<0,01$) taxas de prenhez (78%), do que em administrações no momento da retirada (75%) ou 24 horas após (70,2%), quando ovelhas Dorper foram inseminadas durante o período de transição entre a estação reprodutiva e o anestro sazonal. Barret et al. (2004), avaliando a resposta ovariana de ovelhas tratadas com MAP por 12 dias, seguido de administração de 500 UI de eCG durante a estação e contra estação reprodutiva, concluíram que ovelhas em anestro sazonal exibem mais frequentemente ondas foliculares e picos de FSH do que ovelhas cíclicas; a dose de eCG apresentou efeitos limitados sobre a dinâmica das ondas foliculares de ovelhas cíclicas, embora tenha aumentado as concentrações séricas de estradiol durante o período pré-ovulatório de ovelhas em anestro, resultando sincronismo entre estro e ovulação.

Os protocolos tradicionais de indução e sincronização de cio, normalmente utilizam a progesterona ou análogo, mantida nas ovelhas por período de 12 a 15 dias, cujo objetivo é simular a fase luteal do ciclo estral (Ungerfeld e Rubianes, 1999). Entretanto durante o ciclo estral, as ovelhas apresentam de duas a quatro ondas foliculares entre 4 a 8 dias (Scaramuzzi et al., 2011), e no anestro sazonal um padrão de onda com intervalo de 5 dias (Bartlewski et al., 1998). Evidências sugerem que em cada onda folicular na ovelha, esteja presente um potencial folículo ovulatório, que pode tornar-se grande e estrogênico (Scaramuzzi et al., 2011) e fecundante nos protocolos hormonais de menor duração com progestágeno. Outro fator a ser considerado é que a concentração sérica de progesterona induzida pelos dispositivos usados nos protocolos de indução hormonal atuam de maneira oposta ao observado durante o ciclo estral normal, quando as concentrações de progesterona são baixas após a ovulação e aumentam até a luteólise (Menchaca e Rubianes, 2004), promovendo excessivo crescimento e persistência de grandes folículos (Viñoles et al., 1999), aumentando a idade dos folículos ovulatórios (Johnson et al., 1996) podendo causar baixa fertilidade como relatado na espécie bovina (Austin et al., 1999). Estudos relatam que protocolos

hormonais de 12 dias com progestágenos induzem a ovulação de folículos velhos na espécie ovina (Flynn et al., 2000; Viñoles et al., 2001). As altas concentrações de progesterona ($>5\text{ng/ml}$) conseguidas com protocolos de curta duração utilizando progestágenos aumentam o volume folicular e o número de folículos grandes jovens (Menchaca e Rubianes, 2004), pois afetam a dominância dos grandes folículos de primeira onda, induzindo a regressão precoce destes e acelerando a emergência de uma nova onda folicular, resultando em ovulação de folículos jovens saudáveis (Rubianes et al., 1996).

No final da década de 90, intensificaram-se as pesquisas para avaliar a efetividade de tratamentos hormonais curtos em relação aos tradicionais tratamentos hormonais longos para indução de estro em ovinos. Ungerfeld e Rubianes (1999), avaliando a efetividade de protocolos hormonais curto (PHC) e longo (PHL) com utilização de esponjas de MAP (60 mg) seguidos de aplicação de eCG (400 UI) e monta natural no final da contra estação reprodutiva em ovelhas da raça Corriedale no Uruguai, não encontraram diferença ($P<0,05$) na resposta de estro (72,2%, 93,8%, 87,5%) e na taxa de prenhez (50,0%, 75,0% e 68,8%), nos animais submetidos aos respectivos protocolos de 3, 6 e 12 dias. Este mesmo grupo de pesquisa, estudando o efeito de protocolos de 12 e 6 dias (MAP 60mg) com ou sem administração de eCG (250 UI) na retirada das esponjas, em ovelhas da raça Ideal durante a estação reprodutiva com monta natural, encontraram diferença ($P<0,05$) na taxa de prenhez dos animais do protocolo hormonal curto (87%) sem eCG, em relação aos demais tratamentos (58%, 63%, 67% para curto/eCG, longo, longo/eCG, respectivamente), mas não na expressão de estro (Viñoles et al., 2001).

Resultados de melhor fertilidade de ovelhas em monta natural para protocolos curtos (7 dias; 87,3%) do que para protocolos longos (12 dias; 71,6%), também foram obtidos por Karaca et al. (2009), quando administraram 400 UI de eCG e 0,294 mg de prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) no dia anterior a retirada da esponja (FGA). Ainda Dixon et al. (2006) demonstraram que o efeito da prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$; 5 mg) como agente luteolítico administrado em dois momentos (24 horas antes e no momento da retirada do dispositivo intravaginal - CIDR) em tratamentos curtos (5 dias) possibilitam altas taxas de fertilidade (67,7%) e sincronização de estro (84,3%) em ovelhas durante a estação reprodutiva e monta natural, embora normalmente seja utilizada dose única no momento da remoção dos dispositivos com progestágenos, em protocolos curtos.

Outros experimentos (Ungerfeld e Rubianes, 2002) avaliando diferentes doses e dispositivos a base de progesterona (MAP, FGA e CIDR) em protocolos de 6 a 14 dias associados com administração de eCG (350 a 380 UI), não encontraram diferenças significativas entre a resposta de estro e as taxas de concepção, demonstrando assim a efetividade dos protocolos de menor período de duração dos progestágenos quando utilizados com monta natural e em contra estação reprodutiva.

Depois de parte das pesquisas terem demonstrado que os tratamentos hormonais a base de dispositivos progestágenos por períodos curtos apresentavam bons resultados de expressão e sincronização de estro e taxas aceitáveis de prenhez quando associados com monta natural em ovelhas cíclicas e em anestro sazonal, procurou-se demonstrar a eficácia destes protocolos quando utilizados com inseminação artificial. Recentemente, Martemucci e D'Alessandro (2011) conduziram experimento para avaliar o efeito de tratamentos curtos em rebanhos de ovinos leiteiros submetidos à monta natural (5 dias FGA; 100 µg PGF_{2α} e 200 UI eCG na retirada da esponja) ou à inseminação artificial em tempo fixo (IATF) por laparoscopia (5 dias FGA; 100 µg PGF_{2α} e 200 UI eCG e na retirada da esponja; 100 µg de GnRH 36 horas após a retirada da esponja) com sêmen congelado (80×10^6 espermatozóides/dose) durante a estação reprodutiva. Obtiveram resultados de fertilidade de 86,7% para ovelhas submetidas à monta natural e de 60% para ovelhas da IATF (60 horas após a remoção das esponjas), e sugerem que sejam realizados outros estudos para confirmar estes resultados, uma vez que o número de fêmeas utilizadas foi pequeno (20 animais).

Além dos resultados de pesquisa que indicam que os tratamentos baseados em progestágenos por curtos períodos podem controlar melhor a dinâmica folicular e promover incremento nas taxas de concepção de ovinos (Menchaca e Rubianes, 2004), estes também poderão promover diminuição no custo do valor unitário dos dispositivos e consequentemente no custo total dos protocolos, pois o valor monetário dispendido em cada dispositivo poderá ser dividido pelo número de vezes (ovelhas/dispositivo) em que este for utilizado para indução e sincronização de estro e ovulação. Artigos recentes demonstram a viabilidade de reutilização de dispositivos intravaginais de progesterona. Cox et al. (2012) não verificaram diferenças significativas ($P > 0,05$) sobre taxa de ovulação, número de folículos, diâmetro e persistência folicular e diâmetro de corpo lúteo, quando submeteram ovelhas a dispositivos de progesterona (CIDR) novos ou reutilizados (7 dias) em protocolos curtos de 7 dias. Resultados semelhantes foram obtidos por Pinna et al. (2012), quando avaliaram os parâmetros reprodutivos de

ovelhas Santa Inês submetidas a tratamentos curtos (5 dias) com dispositivos intravaginais novos e reutilizados uma vez (por 5 dias) ou duas vezes (usado duas vezes por 5 dias). Esses autores não observaram diferenças significativas ($P>0,05$) nos parâmetros reprodutivos e na taxa de concepção média (monta natural e inseminação intrauterina) para dispositivos novos (48,4%;15/31), reutilizados uma vez (29,4%;10/34) e duas vezes (45,2%;14/31), pois os dispositivos reutilizados liberaram progesterona em concentrações suficientes para permitir bloqueio adequado de LH, mantendo níveis de esteroides suficiente para garantir boa qualidade de oócitos, não promovendo nenhuma diferença entre os dispositivos.

2.5. Efeito da idade na resposta à sincronização de cios em ovinos

As fêmeas ovinas são classificadas em 3 categorias comerciais, conforme classificação do MAPA (2004), quais sejam: cordeira, fase que vai desde o nascimento até a troca do primeiro par de dentes decíduos (dentes de leite) ao redor de 10-12 meses; borrega, fêmea que apresenta no máximo duas pinças da segunda dentição, entre 12 a 18 meses; ovelhas, fêmeas adultas com troca completa da segunda dentição. Em termos reprodutivos, na prática, as fêmeas jovens normalmente passam a ser chamadas de ovelhas após terem completado a primeira parição. Nessa revisão, foi adotada a nomenclatura borrega para a fêmea jovem nulípara, e ovelha para as fêmeas múltíparas.

A capacidade produtiva da fêmea ovina normalmente é mensurada em função da produção de cordeiros durante a sua vida útil e está diretamente relacionada ao início da atividade reprodutiva a partir da puberdade (entre 6 a 9 meses de idade). Mesmo após atingirem a puberdade, que é definida como a ocorrência do primeiro estro, e quando as concentrações séricas de progesterona atingem níveis de 0,1ng/ml por período igual ou superior a 7 dias, de acordo com Bartlewski et al. (2006), as fêmeas ovinas apresentam indicativos de continuarem sexualmente imaturas, como curta duração e baixa intensidade de manifestação do estro, além da presença de ovulações silenciosas e ciclos estrais irregulares (Abecia et al., 1996; Bathaei, 1996; Sasa et al., 2002). Fatores como a raça, planos nutricionais e época de nascimento podem influenciar o início da puberdade (idade e peso) e prejudicar o desempenho reprodutivo das fêmeas ovinas (Boulanouar et al, 1995). Entretanto, características fisiológicas também são relatadas como possíveis causas de menor fertilidade em fêmeas jovens (borregas). Nestas, até a puberdade, picos endógenos de FSH são precedidos de ondas foliculares, e o número

médio de ondas são mantidos entre 6 semanas até a puberdade, porém em menor quantidade quando comparado às ovelhas cíclicas. Verifica-se também que quando a frequência e altura dos picos de FSH assemelham-se aos de ovelhas sexualmente maduras, nem todos os picos de FSH resultam no surgimento de folículo ovulatório nas borregas (Bartlewski et al., 2006). Esta dissociação entre a secreção de FSH e emergência da onda folicular foi observada anteriormente em ovelhas adultas durante a transição do período de estação de monta para o anestro, devido talvez a sensibilidade diminuída do ovário aos hormônios gonadotrópicos (Bartlewski et al., 1999b), podendo apresentar o mesmo efeito em borregas.

Os resultados de avaliação dos diferentes dispositivos a base de progesterona, utilizados com ovelhas em tratamentos hormonais longos ou curtos durante o período de anestro sazonal e estação reprodutiva apresentam altas resposta de estro (>90%) e variáveis taxas de concepção, quando utilizadas em monta natural (Viñoles et al., 2001; Ungerfeld e Rubianes, 2002; Ungerfeld et al., 2003; Dixon et al., 2006). Quando utilizados em fêmeas jovens, com monta natural ao final do período de anestro, os mesmos dispositivos sugerem resultados semelhantes (Ungerfeld e Rubianes, 1999). Baixa taxa de concepção (25,6%) foi observada quando o protocolo curto foi utilizado para ovelhas adultas consideradas não sazonais (Santa Inês) em período de anestro, com inseminação artificial (sêmen fresco diluído) também foi relatada (Pinna et al., 2012). Melhores resultados (42% fertilidade) são relatados por Gómez-Brunet et al. (2007) em ovelhas adultas induzidas por protocolos longos (12 dias) e inseminadas em tempo fixo (56 horas após remoção das esponjas FGA) pela via cervical com sêmen refrigerado (400×10^6 espermatozoides/0,25 ml).

A avaliação de diferentes protocolos e de sua duração para proporcionar taxas de concepção adequadas em inseminação artificial, assim como acontece em monta natural (Ungerfeld e Rubianes, 1999; Viñoles et al., 2001), devem ser pesquisados em fêmeas jovens e adultas.

2.6. Impacto de biotecnologias reprodutivas no custo de produção de cordeiros

A mudança no perfil brasileiro de produção de ovinos, que até a década de 90 foi destinada em sua maioria para a produção de lã e a partir deste período (crise mundial da lã) mudou gradualmente sua aptidão para produção de carne, melhorou os cuidados com a criação para manter e aumentar a oferta anual de cordeiros ao abate, buscando ser

lucrativa. Nestes sistemas de produção que se tornaram mais intensificados, com maior uso de tecnologia e voltados para a atividade de produção de carne, a eficiência reprodutiva dos rebanhos tornou-se um fator preponderante no resultado do negócio, uma vez que o retorno econômico está alicerçado no número de cordeiros produzidos, além de seu rendimento em peso, pois a quantidade e a qualidade da lã produzida pelas raças especializadas na produção de carne tem baixo valor comercial (Ribeiro et al., 2002).

Pesquisas para determinar a análise de custo, viabilidade econômica, bem como as variáveis produtivas de maior impacto sobre o custo final do cordeiro, a partir do uso de diferentes sistemas de criação (Macedo et al., 2000; Siqueira et al., 2001; Barros et al., 2009) e alimentares (Almeida Junior, et al., 2004; Ziguer et al., 2011) têm sido descritos. Entretanto, a literatura é carente de informações sobre a análise de custo e viabilidade econômica, quando se aplicam as biotecnologias reprodutivas, tais como as técnicas de inseminação artificial, nos rebanhos comerciais de pequenos ruminantes (Machado et al., 1997a) e a aplicação de protocolos indutores e sincronizadores de cio.

Machado e Simplicio (1997b), comparando três métodos de indução de estro associados à inseminação artificial em caprinos, identificaram como componentes do custo as seguintes variáveis: tempo de serviço (procedimento de sincronização), número de animais (100 fêmeas), resposta biológica (taxa de fertilidade e prolificidade), doses de sêmen (quantidade), tratamento sincronizador (quantidade e valor dos fármacos) e mão de obra (médico veterinário, inseminador e ajudante).

Em trabalho mais recente realizado por Cardoso et al. (2009), para determinar o custo do cordeiro produzido por meio de diferentes técnicas de inseminação artificial (IA cervical com sêmen fresco; IA cervical com sêmen congelado; e IA por laparoscopia com sêmen congelado) na raça Santa Inês, os autores identificaram que os dispêndios com tratamento hormonal foram superiores aos demais componentes do custo de produção dos cordeiros (em 65,8%, 54,0% e 28,7% para IA cervical com sêmen fresco, IA cervical com sêmen congelado e IA por laparoscopia com sêmen congelado, respectivamente). Concluíram que a inseminação artificial com sêmen fresco apresentou o menor custo por cordeiro produzido, quando comparado às demais técnicas.

Mais pesquisas devem ser realizadas para avaliar a representatividade dos componentes do custo das técnicas de IA, com os resultados biológicos (prenhez e

prolificidade) e produtivos dos rebanhos comerciais apresentados com a aplicação de diferentes protocolos de indução hormonal.

3. Referências

- ABECIA, J.A., FORCADA, F., GONZÁLEZ-BULNES, A. Hormonal control of reproduction in small ruminants. **Animal Reproduction Science**, v. 130, p. 173-179, 2012.
- ABECIA, J.A., FORCADA, F., ZARAZAGA, L., LOZANO, J.M. The incidence of luteal activity, as determined by peripheral plasma progesterone concentration, before the onset of the breeding season in the Rasa Aragonesa breed of sheep. **Brazilian Veterinary Journal**, v.152, p.353-355, 1996.
- ABECIA, J.A., VALARES, J.A., FORCADA, F., PALACÍN, I., MARTÍN, S., MARTINO, A. The effect of melatonina on the reproductive performance of three sheep breeds of Spain. **Small Ruminant Research**, v. 69, p.10-16, 2007.
- ALMEIDA JUNIOR, G.A., COSTA, C., MONTEIRO, A.L.G., GARCIA, C.A., MUNARI, D.P., NERES, M.A. Desempenho, características de carcaça e resultado econômico de cordeiros criados em *creep feeding* com silagem de grãos úmidos de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1048-1059, 2004.
- ANEL, L., ALVAREZ, M., MARTINEZ-PASTOR, F., GARCIA-MACIAS, V., ANEL, E., PAZ, P. Improvements strategies in ovine artificial insemination. **Reproduction in Domestic Animals**, v.41, p.30-42, 2006.
- ANEL, L.; DE PAZ, P. Field and in vitro assay of three methods for freezing ram semen. **Theriogenology**, v.60, p.1293-1308, 2003.
- ANEL, L., KAABIA, M., ABROUG, B., ALVAREZ, M., ANEL, E., BOIXO, J.C., FUENTE, L.F., PAZ, P. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. **Theriogenology**, v.63, p.1235-1247, 2005.
- AUSTIN, E.J., MIHM, M., RYAN, M.P., WILLIAMS, D.H., ROCHE, J.F. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. **Journal of Animal Science**, v.77, p.2219-2226, 1999.
- BARRET, D.M.W., BARTLEWSKI, P.M., BATISTA-ARTEAGA, M., SYMINGTON, A., RAWLINGS, N.C. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 UI of eCG following a 12-day treatment with progestogen-

- releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. **Theriogenology**, v.61, p.311-327, 2004.
- BARROS, C.S., MONTEIRO, A.L.G., POLI, C.H.E.C., DITTRICH, J.R., CANZIANI, J.R.F., FERNANDES, M.A.M. Rentabilidade da produção de ovinos de corte em pastagem e em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2270-2279, 2009.
- BARTLEWSKI, P.M., BABY, T.E., GIFFIN, J.L. Reproductive cycles in sheep. **Animal Reproduction Science**, v. 124, p.259-268, 2011.
- BARTLEWSKI, P.M., BEARD, A.P., COOK, S.J., CHANDOLIA, R.K., HONARAMOOZ, A., RAWLINGS, N.C. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 115, p. 111-124, 1999a.
- BARTLEWSKI, P.M., BEARD, A.P., COOK, S.J., RAWLINGS, N.C. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.113, p.275-285, 1998.
- BARTLEWSKI, P.M., BEARD, A.P., RAWLINGS, N.C. Ovarian function in ewes during the transition from the breeding season to anoestrus. **Animal Reproduction Science**, v.57, p.51-66, 1999b.
- BARTLEWSKI, P.M., BEARD, A.P., RAWLINGS, N.C. Ultrasonographic study of antral follicle development during sexual maturation in ewe lambs. **Small Ruminant Research**, v.63, p.189-198, 2006.
- BATHAEI, S. Breeding season and oestrous activity of Iranian fat-tailed mehraban ewes and ewe lambs. **Small Ruminant Research**, v.22, p.13-23, 1996.
- BICUDO, S.D. 1999. Estudo da estacionalidade reprodutiva em carneiros Ideal: níveis séricos de testosterona, androstenediona, triiodotironina, tiroxina, biometria testicular, avaliação das características do sêmen e de parâmetros indicativos de adaptação ao clima. 107p. **Tese**. FMVZ-UNESP.
- BOULANOUAR, B., AHMED, M. KLOPFENSTEIN, T., BRINK, D., KINDER, J. Dietary protein or energy restriction influences age and weight at puberty in ewe lambs. **Animal Reproduction Science**, v.40, p.229-238, 1995.
- CÂMARA, D.R., GUERRA, M.M.P. Refrigeração e criopreservação do sêmen ovino: danos inerentes à técnica e influência da suplementação do meio com antioxidantes

- sobre a qualidade espermática. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.1, p. 33-40, 2011.
- CARDOSO, E., CRUZ, J.F., FERRAZ, R.C.N., TEIXEIRA NETO, M.R., SANTOS, R.S. Avaliação econômica de diferentes técnicas de inseminação artificial em ovinos da raça Santa Inês. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.4, n.2, p.217-222, 2009.
- CASAO, A., LUNA, C., SERRANO, E., PÉREZ-PÉ, R., MUIÑO-BLANCO, T., CEBRIÁN-PÉREZ, J.A. Cunantificación de melatonina, lípidos y proteínas oxidados em sêmen ovino de época reproductiva y no reproductiva. **AIDA: XIII Jornadas sobre Producción Animal**, v. 2, p. 723-725, 2009.
- CHABBERT-BUFFET, N., SKINNER, D.C., CARATY, A., BOUCHARD, P. Neuroendocrine effects of progesterone. **Steroids**, v.65, p.613-620, 2000.
- COX, J.F., ALLENDE, R., LARA, E., LEIVA, A., DÍAZ, T., DORADO, J., SARAIVA, F. Follicular dynamics, interval to ovulation and fertility after AI in short-term progesterone and PGF_{2α} oestrous synchronization protocol in sheep. **Reproduction in Domestic Animals**, v.47, p.946-951, 2012.
- CSEH, S., FAIGL, V., AMIRIDIS, G.S. Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. **Animal Reproduction Science**, v.130, p. 187-192, 2012.
- DIXON, A.B., KNIGHTS, M., PATE, J.L., LEWIS, P.E., INSKEEP, E.K. Reproductive performance of ewes after 5-day treatment with intravaginal inserts containing progesterone in combination with injection of prostaglandin F_{2α}. **Reproduction in Domestic Animals**, v.41, p.142-148, 2006.
- DONROV, T.S., BATSAIHAN, D., LEY, W.B. Gonadotropin extraction from pregnant mares serum and effect of PMSG preparation on the fertility of Mongolian native ewes. **Small Ruminant Research**, v.28, p.61-66, 1998.
- EVANS, G. Current topics in artificial insemination of sheep. **Australian Journal of Biological Science**, v. 41, p. 103-116, 1988.
- EVANS, G., MAXWELL, W. **Salamon's artificial insemination of sheep and goats**. Sidney: Butterworths, 1987. 189p.
- FALCHI, L., TAEMA, M., LA CLANCHE, S., SCARAMUZZI, R.J. The pattern of cervical penetration and the effect of topical treatment with prostaglandina and/or FSH and oxytocin on the depth of cervical penetration in the ewe during the peri-ovulatory period. **Theriogenology**, v.78, p.376-384, 2012.

- FLYNN, J.D., DUFFY, P., BOLAND, M.P., EVANS, A.C.O. Progestagen synchronization in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. **Animal Reproduction Science**, v.62, p.285-296, 2000.
- FUKUI, Y., ISHIKAWA, D., ISHIDA, N., OKADA, M., ITAGAKI, R., OGISO, T. Comparison of fertility of estrous synchronized ewes with four diferente intravaginal devices during the breeding season. **Journal of Reproduction and Development**, v.45, p.337-343, 1999.
- GHALSASI, P.M., NIMBKAR, C. Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. **Small Ruminant Research**, v.23, p. 69-73, 1996.
- GILLAN, L., MAXWELL, W.M.C., EVANS, G. Preservation and evaluation of semen for artificial insemination. **Reproduction, Fertility and Development**, v.16, p. 447-454, 2004.
- GILLAN, L., SKOVGOLD, K., WATSON, P.F., EVANS, G., MAXWELL, W.M.C. Fate and functional integrity of fresh and frozen-thawed ram spermatozoa following intrauterine insemination. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 11, p. 309-315, 1999.
- GÓMEZ-BRUNET, A., SANTIAGO-MORENO, J., MONTORO, V., GARDE, J., PONS, P., GONZÁLES-BULNES, A., LÓPEZ-SEBASTIÁN, A. Reproductive performance and progesterone secretion in estrus-induced Manchega ewes treated with hCG at the time of AI. **Small Ruminant Research**, v.71, p.117-122, 2007.
- HAFEZ, E.S.E. Preservação e criopreservação de gametas e embriões. IN: HAFEZ, E.S.E., HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7 ed. Manole. Barueri. p. 435-446, 2004.
- HALBERT, G., DOBSON, H., WALTON, J., BUCKRELL, B. The structure of the cervical canal of the ewe. **Theriogenology**, v. 33, p. 977-992, 1990.
- IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal, 2011.
- IBGE, Séries Históricas, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, PPM, 2011.
- KAABI, M. Análisis de factores morfoestructurales, instrumentals y metodológicos de la inseminación transcervical em la oveja. **Tese**, Escola de Veterinária da Universidade de León, Espanha, 2002.

- KARSCH, F.J., BITTMAN, E.L., FOSTER, D.L., GOODMAN, R.L., LEGAN, S.J., ROBINSON, J.E. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. **Recent Progress Hormone Research**, v 40, p. 185-225, 1984.
- KARSCH, F.J., DAHL, G.E., EVANS, N.P. MANNING, J.M., MAYFIELD, K.P., MOENTER, S.M., FOSTER, D.L. Seasonal changes in gonadotropin-releasing hormone secretion in the ewe: alteration in response to the negative feedback action of estradiol. **Biology of Reproduction**, v. 49, p. 1377-1383, 1993.
- KERSHAW, C.M., KHALID, M., MCGOWAN, M.R., INGRAM, K., LEETHONGDEE, S., WAX, G., SCARAMUZZI, R.J. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. **Theriogenology**, v.64, p.1225-1235, 2005.
- KING, M.E., MCKELVEY, W.A.C., DINGWALL, W.S., MATTHEWS, K.P., GEBBIE, F.E., MYLNE, M.J.A., STEWART, E., ROBINSON, J.J. Lambing rates and litter sizes following intrauterine or cervical insemination of frozen/thawed semen with or without oxytocin administration. **Theriogenology**, v.62, p. 1236-1244, 2004.
- LEAHY, T., GRAAF, S.P.de. Seminal plasma and its effect on ruminant spermatozoa. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p.207-213, 2012.
- LEETHONGDEE, S., KLALID, M., BHATTI, A., PONGLOWHAPAN, S., KERSHAW, C.M., SCARAMUZZI, R.J. The effects of the prostaglandin E analogue Misoprostol and follicle-stimulating hormone on cervical penetrability in ewes during the peri-ovulatory period. **Theriogenology**, v. 67, p. 767-777, 2007.
- LINCOLN, G.A., LINCOLN, C.E., MCNEILLY, A.S. Seasonal cycles in the blood plasma concentration of FSH, inhibin and testosterone, and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 88, p. 623-633, 1990.
- LUTHER, J.S., GRAZUL-BILSKA, A.T., KIRSCH, J.D., WEIGL, R.M., KRAFT, K.C., NAVANUKRAW, C., PANT, D., REYNOLDS, L.P., REDMER, D.A. The effect of GnRH, eCG and progestin type on estrous synchronization following laparoscopic AI in ewes. **Small Ruminant Research**, v. 72, p. 227-231, 2007.
- MACEDO, F.A.F., SIQUEIRA, E.R., MARTINS, E.N. Análise econômica da produção de carne de cordeiros sob dois sistemas de terminação: pastagem e confinamento. **Ciência Rural**, v.30, n.4, p.677-680, 2000.

- MACHADO, R., ZAGATTO, L.C.A.G., AZEVEDO, H.C., SIMPLÍCIO, A.A. Viabilidade econômica da inseminação artificial em caprinos. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.35, n.3, p.141-149, 1997a.
- MACHADO, R., SIMPLÍCIO, A.A. Composição dos custos de programas reprodutivos para caprinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, n.2, p.150-151, 1997b.
- MAPA (2004). Instrução Normativa no. 9, de 04 de maio de 2004. Classificação de carcaças ovinas.
- MARTEMUCCI, G., D'ALESSANDRO, A.G. Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF_{2α}, GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. **Animal Reproduction Science**, v.123, p.32-39, 2011.
- MARTINS, L.T., SANTOS NETO, P.C.dos., GAUDÊNCIO NETO, S., RAUBER, L.P., BERTOLINI, M., VIEIRA, A.D., MEZZALIRA, A. Microbiological and functional evaluation of na alternative device (OB[®]) for estrous synchronization in ewes. **Ciência Rural**, v.40, n.2, p.389-395, 2010.
- MAXWELL, W.M.C., DE GRAAF, S.P., CHAOUI REL, H., EVANS, G. Seminal plasma effects on sperm handling and female fertility. **Society Reproduction Fertility**, v. 64, p.13-38, 2007.
- MAXWELL, W.M.C., SALAMON, S. Liquid storage of ram semen: a review. **Reproduction, Fertility and Development**, v.5, p.613-638, 1993.
- MENCHACA, A., RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, v.16, p.403-413, 2004.
- MORAES, J.C.F., SOUZA, C.J.H.de., GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. IN: GONÇALVES, P.B.D., FIQUEIREDO, J.R., FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. Varela, São Paulo, p. 25-55, 2002.
- NAQVI, S.M.K., JOSHI, A., MATHUR, A.K., BAS, S., MITTAL, J.P. Intrauterine artificial insemination of (Malpura) ewes in natural estrus with frozen ram semen. **Small Ruminants Research**, v. 29, p.329-333, 1998.
- O'HARA, L., HANRAHAN, J.P., RICHARDSON, L., DONOVAN, A., FAIR, S., EVANS, A.C.O., LONERGAN, P. Effect of storage duration, storage temperature, and diluent on the viability and fertility of fresh ram semen. **Theriogenology**, v.73, p. 541-549, 2010.

- OLLERO, M., PEREZ-PE, R., MUINO-BLANCO, T., CEBRIAN-PEREZ, J.A. Improvement of ram sperm cryopreservation protocols assessed by sperm quality parameters and heterogeneity analysis. **Cryobiology**, v.37, p.1-12, 1998.
- ORTAVANT, R., BOCQUIER, F., PELLETIER, J., RAVAUULT, J.P., THIMONIER, J., VOLLAND-NAIL, P. Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. **Australian Journal of Biological Science**, v. 41, p. 69-85, 1998.
- PALACÍN, I., YANIZ, J.L., FANTOVA, E., BLASCO, M.E., QUINTIN-CASORRAN, F.J., SEVILLA-MUR, E., SANTOLARIA, P. Factors affecting fertility after cervical insemination with cooled sêmen in meat sheep. **Animal Reproduction Science**, v. 132, p. 139-144, 2012.
- PAULENZ, H., SÖDERQUIST, L., PÉRE-PÉ, R., BERG, K.A. Effect of diferente extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. **Theriogenology**, v.57, p. 823-836, 2002.
- PELLETIER, J., ALMEIDA, G. Short light cycles induce persistent reproductive activity in Ile-de-France rams. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 34, p. 215-226, 1987.
- PINNA, A.E., BRANDÃO, F.Z., CAVALCANTI, A.S., BORGES, A.M., SOUZA, J.M.G., FONSECA, J.F. Reproductive parameters of Santa Inês ewes submitted to short-term treatment with re-used progesterone devices. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.2, p.333-340, 2012.
- RIBEIRO, L.A.O., GREGORY, R.M., MATOS, R.C. Prenhez em rebanhos ovinos do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, V.32, n.4, p.637-641, 2002.
- RICHARDSON, L., HANRAHAN, J.P., DONOVAN, A., MARTI, J.I., FAIR, S., EVANS, A.C.O., LONERGAN, P. Effect of site of deposition on the fertility of sheep inseminated with frozen-thawed semen. **Animal Reproduction Science**, v. 131, p. 160-164, 2012.
- RICHARDSON, L., HANRAHAN, J.P., O'HARA, L., DONOVAN, A., FAIR, S., O'SULLIVAN, M., CARRINGTON, S.D., LONERGAN, P., EVANS, A.C.O. Ewe breed differences in fertility after cervical AI with frozen-thawed semen and associated differences in sperm penetration and physicochemical properties of cervical mucus. **Animal Reproduction Science**, v.129, p. 37-43, 2011.
- ROBINSON, J.J., ASHWORTH, C.J., ROOKE, J.A., MITCHELL, L.M., MCEVOY, T.G. Nutrition and fertility in ruminant livestock. **Animal Feed Science and Technology**, v. 126, p. 259-276, 2006.

- ROCHA, L.V., REATAMAL, C.A., QUIRINO, C.R., DIAS, A.B. Adição do plasma seminal ao sêmen ovino descongelado. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n.2, p. 198-205, 2011.
- ROCHE, J.F., AUSTIN, E.J., RYAN, M., O'ROURKE, M., MIHM, M., DISKIN, M.G. Regulation of follicle waves to maximize fertility in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.54, p.61-71, 1999.
- ROMANO, J.E., RODAS, E., FERREIRA, A., LAGO, I., BENECH, A. Effects of progestagen, PMSG and artificial insemination time on fertility and prolificacy in Corriedale ewes. **Small Ruminant Research**, v.23, p.157-162, 1996.
- ROSA, H.J.D., BRYANT, M.J. Seasonality of reproduction in sheep. **Small Ruminant Research**, v. 48, p. 155-171, 2003.
- RUBIANES, E., DE CASTRO, T., CARBAJAL, B. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. **Canadian Journal of Animal Science**, v.76, p.473-475, 1996.
- RUSSEL, A. Body condition scoring of sheep. **In Practice**, v.6, n.3, p. 91-93, 1984.
- SALAMON, S., MAXWELL, W.M.C. Frozen storage of ram sêmen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 37, p. 185-249, 1995.
- SALAMON, S., MAXWELL, W.M.C. Storage of ram semen. **Animal Reproduction Science**, v.62, p. 77-111, 2000.
- SASA, A., TESTON, D.C., RODRIGUES, P.de A., COELHO, L. de A., SCHALCH, E. Concentrações plasmáticas de progesterona em borregas lanadas e deslanadas no período de abril a novembro, no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1150-1156, 2002.
- SCARAMUZZI, R.J., BAIRD, D.T., CAMPBELL, B.K., DRIANCOURT, M.A., DUPONT, J., FORTUNE, J.E., GILCHRIST, R.B., MARTIN, G.B., MCNATTY, K.P., MCNEILLY, A.S., MONGET, P., MONNIAUX, D., VIÑOLES, C., WEBB, R. Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, v.23, p.444-467, 2011.
- SIMPLÍCIO, A.A. Estratégias de manejo reprodutivo como ferramenta para prolongar o período de oferta de carnes caprina e ovina no Brasil. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 2, p. 29-39, 2008.
- SIQUEIRA, E.R., SIMÕES, C.D., FERNANDES, S. Efeito do sexo e do peso ao abate sobre a produção de carne de cordeiro. I. Velocidade de crescimento, caracteres

- quantitativos da carcaça, pH da carne e resultado econômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.844-848, 2001.
- SOUZA, C.J.H., CAMPBELL, B.K., BAIRD, D.T. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during anoestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 108, p. 101-106, 1996.
- STRADAIOLI, G., NORO, T., SYLLA, L., MONACI, M. Decrease in glutathione (GSH) content in bovine sperm after cryopreservation: comparison between two extenders. **Theriogenology**, v. 67, p. 1249-1255, 2007.
- TSAKMAKIDIS, I.A. Ram semen evaluation: development and efficiency of modern techniques. **Small Ruminant Research**, v.92, p. 126-130, 2010.
- UNGERFELD, R., RUBIANES, E. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. **Animal Science**, v.68, p. 349-353, 1999.
- UNGERFELD, R., RUBIANES, E. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. **Small Ruminant Research**, v.46, p.63-66, 2002.
- UNGERFELD, R., SUÁREZ, G., CARBVAJAL, B., SILVA, L., LACA, M., FORSBERG, M., RUBIANES, E. Medroxyprogesterone primings and response to the ram effect in Corriedale ewes during the non-breeding season. **Theriogenology**, v.60, p.35-45, 2003.
- USLU, B.A., TASAL, I., GULYUZ, F., SENDAG, S., UCAR, O., GOERICKE-PESCH, S., WEHREND, A. Effects of oestrus synchronization using melatonin and norgestomet implants followed by eCG injection upon reproductive traits of fat-tailed Morkaraman ewes during suckling, anoestrus season. **Small Ruminant Research**, v.108, p.102-106, 2012.
- VIÑOLES, C., FORSBERG, M., BANCHERO, G., RUBIANES, E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. **Theriogenology**, v.55, p.993-1004, 2001.
- VIÑOLES, C., MEIKLE, A., FORSBERG, M., RUBIANES, E. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. **Theriogenology**, v.51, p.1351-1361, 1999.

- VIÑOLES, C., MEIKLE, A., MARTIN, G.B. Short-term nutritional treatments grazing legumes or feeding concentrates increase prolificacy in Corriedale ewes. **Animal Reproduction Science**, v. 113, p.82-92, 2009.
- WAYNE, N.L., MALPAUX, B., KARSCH, F.J. Social cues can play a role in timing onset of the breeding season of the ewe. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 87, p. 707-713, 1989.
- WELCH, R.A.S. ANDREWES, W.D., BARNES, D.R., BREMER, K., HARVEY, T.G. CIDR dispenser for oestrus and ovulation control in sheep. IN: **Proceedings of the 10th International Congress on Animal Reproduction & Artificial Insemination**, v.3, p. 354-355, 1984.
- WILDEUS, S. Current concepts in synchronization of estrus: sheep and goats. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 1-14, 2000.
- YÑIZ, J., MARTI, J.I., SILVESTRE, M.A., FOLCH, J., SANTOLARIA, P., ALABART, J.L., LOPES-GATIUS, F. Effects of solid storage of sheep spermatozoa at 15 degrees on their survival and penetrating capacity. **Theriogenology**, v.64, p. 1844-1851, 2005.
- ZELEKE, M., GREYLING, J.P.C., SCHWALBACH, L.M.J., MULLER, T., ERASMUS, J.A. Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. **Small Ruminant Research**, v.56, p. 47-53, 2005.
- ZIGUER, E.A., TONIETO, S.R., PFEIFER, L.F.M., BERMUDEZ, R.F., SCHWEGLER, E., CORRÊA, M.N., DIONELLO, N.J.L. Resultados econômicos da produção de cordeiros em confinamento utilizando na dieta casca de soja associada a quatro fontes de nitrogênio não-protéico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.9, p.2058-2065, 2011.

4. Relato dos Ensaios Realizados

Neste histórico estão descritos todos os ensaios realizados, dos quais parte dos resultados compuseram os capítulos apresentados nesta tese; os ensaios deram-se a partir da aprovação pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Edital Arranjos Produtivos Locais, Nº 039/2008), do projeto de pesquisa (574674/2008-0) intitulado “Intensificação da produção visando padronização e abastecimento regular de carne de cordeiro na região de Guarapuava – PR, por meio da implementação de tecnologias de manejo reprodutivo na criação de ovinos”. Este projeto esteve sob a coordenação da Universidade do Centro Oeste do Paraná – Unicentro (Prof. Dr. Guilherme de Medeiros Bastos, coordenador do Laboratório de Reprodução Animal), com instituições parceiras, como a Universidade Federal do Paraná (Profa. Dra. Alda Lúcia Gomes Monteiro do Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos – LAPOC), Cooperativa de Carnes Nobres Vale do Jordão (Cordeiro Cooperaliança) e Sindicato Rural de Guarapuava.

O início das atividades experimentais foi em abril de 2012, com objetivo de avaliação dos protocolos hormonais (PHC: protocolo hormonal curto de 6 dias; PHL: protocolo hormonal longo de 12 dias), associados as técnicas de inseminação artificial em tempo fixo (cervical superficial, transcervical e intrauterina) e aos tipos de sêmen (fresco diluído, refrigerado e congelado), na estação e contra estação reprodutiva dos ovinos, e prolongando-se até janeiro de 2012. Foram realizados 15 ensaios experimentais, com uso da inseminação artificial em tempo fixo (IATF; 54 a 60 horas após a remoção dos pessários vaginais contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona - MAP) no total de 1.041 fêmeas distribuídas nas regiões Norte (Londrina; Reserva), Centro-Sul (Guarapuava; Candói), Sul (Curitiba) e Campos Gerais (Castro) do Estado do Paraná e região Oeste (Uruguaiana) do Estado do Rio Grande do Sul. Utilizaram-se animais de raças especializadas na produção de carne (Suffolk, Texel e Ile de France) e de raça lã (Ideal).

O primeiro experimento, realizado em Curitiba, no Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos (LAPOC/UFPR), teve como objetivo testar os protocolos curto e longo associado à inseminação artificial transcervical com uso Aplicador Expansor Ovino® (Alta Genetics), cuja técnica previa pinçamento e tração do colo do útero (cérvix) até a genitália externa e transposição dos anéis cervicais com o mini-aplicador e deposição de sêmen descongelado no corpo do útero. A hipótese

sustentada pela empresa que comercializa o referido aplicador é de que este substituiria a tradicional técnica de inseminação intrauterina por laparoscopia, proporcionando ampla utilização de sêmen congelado de carneiros melhoradores, com custo reduzido para o criador de ovinos. Entretanto, não foi encontrada na literatura a comprovação da efetividade da técnica com uso de sêmen congelado na literatura. O tratamento com sêmen resfriado (15°C) foi incluído como controle. A baixa taxa de fertilidade (Quadro 1) demonstrou que havia necessidade de repetir este experimento para comprovar os resultados.

Quadro 1. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Suffolk inseminadas em abril de 2010, em Curitiba, PR. (LAPOC/UFPR)

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
54	PHC (n=29)	Transcervical	Descongelado (n=14)	14,3
			Resfriado (n=15)	0
	PHL (n=25)	Transcervical	Descongelado (n=12)	16,7
			Resfriado (n=13)	15,4

O segundo experimento utilizando os mesmos procedimentos do primeiro, foi realizado em propriedade privada de produção de ovinos na região de Guarapuava, e a taxa de fertilidade também resultou baixa (Quadro 2), aplicando-se a técnica de IA transcervical com Aplicador Expansor Ovino com sêmen descongelado ou resfriado (15°C).

Quadro 2. Percentual de prenhez (%) de borregas Ile de France x Texel inseminadas em setembro de 2010, em Guarapuava, PR

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
68	PHC (n=34)	Transcervical	Descongelado (n=17)	0
			Resfriado (n=17)	5,9
	PHL (n=34)	Transcervical	Descongelado (n=18)	11,1
			Resfriado (n=16)	18,8

O terceiro experimento foi realizado em Curitiba, no LAPOC/UFPR, com borregas em contra estação reprodutiva, aumentando-se o desafio – animais jovens e

fora da estação – quanto à obtenção de taxas satisfatórias de fertilidade. O resultado de prenhez (Quadro 3), levando-se em conta os resultados de fêmeas que receberam protocolo longo e laparoscopia, demonstrou que a técnica de IA transcervical com sêmen descongelado poderia ser prejudicial ao percentual de prenhez, apesar do reduzido número de repetições (animais).

Quadro 3. Percentual de prenhez (%) de borregas Suffolk inseminadas em setembro de 2010, em Curitiba (LAPOC/UFPR)

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
36	PHC (n=18)	Transcervical (n=10)	Descongelado	0
		Laparoscopia (n=8)		0
	PHL (n=18)	Transcervical (n=7)	Descongelado	0
		Laparoscopia (n=11)		27,3

No quarto experimento realizado em propriedade particular em Guarapuava, o número de repetições era satisfatório e as fêmeas estavam em escore de condição corporal aceitável para atividade reprodutiva (2,5; escala de 1 a 5, de acordo com Russel, 1984), e os procedimentos ocorreram de forma satisfatória no dia da IATF. Entretanto, 30 dias depois, a partir do diagnóstico de gestação por ultrassonografia, nenhum dos animais apresentava prenhez (Quadro 4). Atribuiu-se este resultado ao manejo de administração de medicamentos anti-parasitários e tosquia realizadas duas semanas depois da IATF, mesmo com prévia recomendação ao proprietário da fazenda, de que os animais inseminados não deveriam sofrer manejos que pudessem comprometer o desenvolvimento embrionário.

Quadro 4. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Texel inseminadas em outubro de 2010, em Guarapuava, PR

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
124	PHC (n=62)	Transcervical	Descongelado (n=31)	0
			Resfriado (n=31)	0
	PHL (n=62)	Transcervical	Descongelado (n=31)	0
			Resfriado (n=31)	0

O quinto experimento, também realizado em propriedade privada, também demonstrou a baixa eficácia da técnica transcervical com Aplicador Expansor Ovino® associado ao sêmen congelado (Quadro 5). A presença de muco cristalino na vagina e na vulva de todas as ovelhas no momento da IATF sugeria a eficácia dos protocolos usados para indução.

Quadro 5. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Ile de France inseminadas em outubro de 2010, em Reserva, PR

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
51	PHC (n=24)	Transcervical	Descongelado	8,3
	PHL (n=27)	Transcervical	Descongelado	7,4

O sexto experimento, realizado no LAPOC/UFPR usando somente o protocolo longo associado à técnica de IA transcervical com sêmen fresco e descongelado, sugeria maior facilidade na transposição dos anéis cervicais por se tratarem de ovelhas com aproximadamente 30 dias após o parto. Não houve nenhuma ovelha prenhe no lote experimental (Quadro 6).

Quadro 6. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Suffolk em lactação inseminadas em dezembro de 2010, em Curitiba (LAPOC/UFPR)

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
39	PHL	Transcervical	Fresco (n=15)	0
		Transcervical	Descongelado (n=24)	0

O sétimo experimento realizado em Guarapuava em propriedade particular, também não apresentou resultado satisfatório de prenhez (Quadro 7) em nenhum dos protocolos utilizados com IATF transcervical associada a sêmen descongelado.

Quadro 7. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Ile de France inseminadas em dezembro de 2010, em Guarapuava, PR

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
40	PHC (n=19)	Transcervical	Descongelado	0
	PHL (n=21)			4,8

Com o oitavo ensaio, encerraram-se os experimentos para testar a técnica transcervical com uso do Aplicador Expansor Ovino®, onde o resultado de prenhez também foi baixo (Quadro 8). Com este resultado, optou-se pela utilização de outro aplicador (IMV) para a inseminação cervical.

Quadro 8. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Suffolk inseminadas em março de 2011, em Curitiba (LAPOC/UFPR)

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
50	PHL	Laparoscopia (n=25)	Descongelado	28
		Transcervical (n=25)		4

O 9º experimento foi realizado em propriedade privada em Candói, PR, com ovelhas Texel durante a estação reprodutiva e as taxas de prenhez não apresentaram diferenças estatísticas entre os protocolos (Quadro 9).

Quadro 9. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Texel inseminadas em março de 2011, em Candói, PR

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
53	PHC (n=21)	Laparoscopia	Descongelado	38,1
	PHL (n=32)			31,1

O experimento 10 também não mostrou diferença ($P>0,05$) na taxa de prenhez entre animais submetidos aos protocolos curto e longo (Quadro 10), utilizando-se borregas da raça Suffolk pertencentes ao rebanho do LAPOC/UFPR, embora como

ocorrido no 9º experimento, o percentual numérico de fêmeas fertilizadas foi maior para o grupo submetido ao protocolo curto.

Quadro 10. Percentual de prenhez (%) de borregas Suffolk inseminadas em março de 2011, em Curitiba (LAPOC/UFPR)

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
29	PHC (n=15)	Laparoscopia	Descongelado	46,7
	PHL (n=14)			28,6

O 11º experimento foi conduzido em propriedade privada de produtor cooperado da Cooperativa de Carnes Nobres Coopercapanna (Cordeiro Capanna), na região norte do Estado do Paraná, em conjunto com o projeto “Validação de sistemas de produção de cordeiros para carne”, apoiado CNPq (559182/2010-4), este sob a coordenação da Profa. Dra. Alda Lúcia Gomes Monteiro (UFPR).

Neste estudo (Quadro 11) utilizou-se um único protocolo de sincronização (longo, de 12 dias), e buscava-se avaliar a adição de plasma seminal ao sêmen descongelado, como alternativa para melhorar as taxas de fertilidade do rebanho, tendo como protocolo controle a inseminação via cervical superficial (aplicador de sêmen IMV com sêmen fresco diluído) e intrauterina (laparoscopia com sêmen descongelado). Entretanto, não houve diferença ($P>0,05$) entre o sêmen descongelado com ou sem a adição de plasma seminal.

O conjunto destes resultados encontra-se discutido no capítulo 2 intitulado “Adição de plasma seminal ao sêmen descongelado e a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo fixo”, cujo artigo está publicado (v.65, n.1, p.13-18, 2013) junto à revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ISSN 0102-0935).

Quadro 11. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Texel x Suffolk inseminadas em maio de 2011, em Londrina, PR

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
174	PHL	Cervical	Descongelado + PBS (n=49)	4,3
			Descongelado + Plasma (n=43)	7,0
		Superficial	Fresco + PBS (n=44)	50,0
			Laparoscopia Descongelado + PBS (n=38)	39,4

No 12º experimento (Quadro 12) o objetivo foi avaliar a taxa de prenhez de borregas cruzadas submetidas aos protocolos curto e longo e inseminadas em tempo fixo pela via cervical superficial com sêmen fresco diluído (1:2). A taxa de fertilidade foi maior ($P<0,05$), para as borregas do protocolo hormonal curto. Este foi o melhor resultado de fertilidade com borregas inseminadas em contra estação reprodutiva, sugerindo que o protocolo curto também pode ser usado para indução e sincronização de estro em borregas cruza Dorper x Suffolk quando inseminadas (IATF) com sêmen fresco diluído pela via cervical superficial.

Quadro 12. Percentual de prenhez (%) de borregas Dorper x Suffolk inseminadas em outubro de 2011, em Curitiba (LAPOC/UFPR)

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
37	PHC (n=20)	Cervical Superficial	Fresco Diluído	60
	PHL (n=17)			29,4

O 13º experimento foi realizado em propriedade privada de produtor cooperado da Cooperativa Castrolanda no final do período de contra estação reprodutiva. Os resultados de prenhez apresentaram-se satisfatórios, embora não tenha havido diferença significativa entre os protocolos curto e longo.

Quadro 13. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Texel inseminadas em dezembro de 2011, em Castro, PR

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
43	PHC (n=23)	Laparoscopia	Descongelado	56,5
	PHL (n=20)			65

O 14º experimento foi realizado na mesma propriedade do 13º ensaio e foram utilizadas ovelhas com média de 45 dias após o parto, a fim de avaliar a taxa de fertilidade quando as fêmeas lactantes foram submetidas a protocolos curto e longo de sincronização de cio e inseminadas em tempo fixo (54 a 60 horas) após a retirada do dispositivo de MAP com sêmen fresco diluído. O protocolo curto também apresentou maior taxa de prenhez durante o final do período de contra estação reprodutiva, e indicou a possibilidade de fertilização de fêmeas durante o período de lactação (período pouco estudado em ovinos), como acontece na espécie bovina, reduzindo o intervalo entre partos.

Quadro 14. Percentual de prenhez (%) de ovelhas Texel em lactação inseminadas em dezembro de 2011, em Castro, PR

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
24	PHC (n=11)	Cervical	Fresco Diluído	54,5
	PHL (n=13)	Superficial		23,1

O último experimento (15º) foi realizado no Estado do Rio Grande do Sul, em propriedade privada de produção de ovinos, e o objetivo foi avaliar o efeito dos horários de inseminação para cada protocolo hormonal. Não houve diferença entre os protocolos hormonais (Quadro 15), mas a taxa de prenhez das ovelhas inseminadas entre 59,5 e 62 horas após a retirada das esponjas foi maior ($P < 0,05$).

Quadro 15. Percentual de prenhez (%) de ovelhas da raça Ideal submetidas a protocolo hormonal curto e longo de indução de cio e inseminadas em dois horários após a retirada do pessário vaginal

N total	Protocolo	Técnica	Sêmen	Prenhez (%)
219	PHC (n=48) (55h 30min a 58h 30 min)	Cervical	Fresco	16,6
	PHC(n=55) (58h 31min a 61h 30 min)			32,7
	PHL(n=60) (55h 30min a 58h 30 min)	Superficial	Diluído	28,3
	PHL(n=56) (55h 30min a 58h 30 min)			42,9

CAPÍTULO II - ADIÇÃO DE PLASMA SEMINAL AO SÊMEN DESCONGELADO E A TAXA DE PREENHEZ DE OVELHAS INSEMINADAS EM TEMPO FIXO

Resumo

Avaliou-se o efeito da adição de plasma seminal ovino ao sêmen descongelado sobre a taxa de prenhez de ovelhas em rebanho comercial. Cento e setenta e quatro ovelhas cruza Texel foram distribuídas em quatro tratamentos: T1) inseminação artificial cervical (IAC) com sêmen descongelado (SD) diluído em solução tampão fosfato salino (PBS); T2) IAC com SD e adição de plasma seminal ovino; T3) grupo controle I: IAC com sêmen fresco diluído em PBS; T4) grupo controle II: inseminação artificial por laparoscopia com SD diluído em PBS. Para indução de cio, utilizaram-se esponjas impregnadas com 60mg acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 12 dias, com aplicação intramuscular de 400 UI de eCG (Novormon[®]) e de 37,5µg de cloprostenol sódico (Sincrocio[®]), no dia da retirada das esponjas. O aparecimento de cio foi monitorado com rufiões vasectomizados a partir da retirada das esponjas até a inseminação artificial em tempo fixo - 54 a 60 horas. A taxa de prenhez do tratamento com adição de plasma seminal ao sêmen descongelado (7,0%) não diferiu ($P>0,05$) do tratamento sem adição de plasma (4,3%), entretanto foi menor ($P<0,05$) se comparada à taxa de prenhez dos grupos controle I inseminação via cervical superficial com sêmen fresco diluído (50,0%) e II inseminação via laparoscopia com sêmen descongelado (39,4%). A inseminação artificial por via cervical superficial com adição de plasma seminal ao sêmen descongelado não elevou o percentual de prenhez em valores que justifiquem a indicação desta biotecnologia em rebanhos comerciais de ovinos.

Palavras-chave: ovelha, inseminação cervical, laparoscopia.

ADDITION OF SEMINAL PLASMA TO FROZEN-THAWED SEMEN AND PREGNANCY RATE OF FIXED TIME INSEMINATED EWES

Abstract

The effect of seminal plasma addition to thawed-frozen ram semen on the pregnancy rate of commercial herd ewes was evaluated. One hundred and seventy-four crossbred Texel sheep were allocated to four treatments: T1) cervical artificial insemination (CAI)

using frozen-thawed semen (FTS) diluted in phosphate buffered saline solution (PBS); T2) CAI using FTS diluted in ovine seminal plasma; T3) control group I: CAI using fresh semen diluted in PBS; T4) control group II: laparoscopic insemination using FTS diluted in PBS. Estrus induction was performed with medroxyprogesterone acetate (MAP) impregnated sponges for 12 days, followed by intramuscular injection of 400 IU of eCG (Novormon®) and 37.5µg of sodium cloprostenol (Sincrocio®) on the day of sponge removal. Estrus was monitored with vasectomized rams, beginning on the time of sponge removal until the fixed time artificial insemination - 54 to 60 hours. The pregnancy rate of FTS diluted in seminal plasma treatment (7.0%) did not differ ($P>0.05$) of treatment without addition of seminal plasma (4.3%), however it was lower ($P<0.05$) if compared to pregnancy rate of cervical inseminated control I group with PBS diluted fresh semen (50.0%) and laparoscopic inseminated control group II with PBS diluted FTS (39.4%). The cervical artificial insemination with the addition of seminal plasma to frozen-thawed semen did not increase the pregnancy rate at acceptable values to make this biotechnology useful on commercial herds.

Keywords: ewe, cervical insemination, laparoscopy.

1. Introdução

A inseminação artificial (IA) com sêmen congelado é uma biotecnologia reprodutiva que vem sendo aplicada em rebanhos comerciais e de elite de ovinos. Esta pode fornecer troca de material genético e aumento da base genética da população de ovinos locais dentro de raça, sem a necessidade de transporte dos animais, além de permitir que programas de cruzamento possam ser desenvolvidos, utilizando-se raças de ovelhas que não são adaptadas ao clima dos trópicos (Godfrey et al., 1999). No entanto, as taxas de concepção de ovelhas submetidas a esse procedimento são consideradas baixas. Alguns fatores são descritos como limitadores, dentre eles está a anatomia do colo do útero (cérvix) da ovelha. Esta estrutura longa é descrita como um órgão fibroso tubular, composto predominantemente por tecido conjuntivo, tortuoso, por apresentar de quatro a sete anéis cervicais e frequentemente desalinhados, dificultando a introdução de pipetas de inseminação pela via cervical além do primeiro anel (Kershaw et al., 2005). A baixa resistência do sêmen de carneiro ao congelamento (Rabassa et al., 2007) é descrito como outro fator limitante da técnica em rebanhos comerciais.

A técnica de laparoscopia tem sido usada para IA intra-uterina em rebanhos comerciais de ovinos, entretanto, não possui ampla adoção pelas preocupações relacionadas ao bem-estar dos animais, restrições financeiras e pela inacessibilidade aos técnicos não qualificados (Kershaw et al., 2005).

O uso de IA com sêmen fresco ou refrigerado, quando estes são comparados com sêmen congelado, apresenta maiores chances de popularização, por requerer técnicas menos sofisticadas de deposição do sêmen no aparelho genital feminino (Bicudo et al., 2005). Outra consideração importante é que o sêmen descongelado via cervical não tem proporcionado resultados satisfatórios de prenhez, em virtude de falhas no transporte ou alterações bioquímicas e moleculares das células submetidas ao processo de congelamento e descongelamento, ou ainda, pela falta de sobrevivência dos espermatozoides (Evans e Maxwell, 1990). A baixa fertilidade com sêmen descongelado na IA cervical se dá principalmente pelo aumento do número de células capacitadas e acrossoma reagido, resultantes dos processos de diluição (Maxwell e Johnson, 1999), congelação e descongelação (Salamon e Maxwell, 2000).

Com propósito de melhorar a viabilidade do sêmen congelado para posterior utilização em inseminações via cervical, pesquisas têm sugerido a adição de plasma seminal após o descongelamento. O plasma seminal é uma secreção que fornece proteção e transporte aos espermatozoides, sendo proveniente de várias fontes, principalmente das glândulas acessórias do macho. É composto de ácido ascórbico, aminoácidos, peptídeos, proteínas, lipídeos, ácidos graxos e enzimas (Garner e Hafez, 2004). Segundo Kirkwood et al. (2008), quando o plasma seminal é adicionado ao sêmen criopreservado, este interfere na fisiologia do espermatozoide, impedindo a capacitação precoce e aumentando sua vida fértil, além de resultar em maior reservatório de espermatozoides dentro do oviduto, alcançando assim o tempo de ovulação e tornando-os capazes de associar-se às células epiteliais do oviduto para proporcionar maiores taxas de fertilidade. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição de plasma seminal ao sêmen ovino descongelado sobre a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo fixo pela via cervical superficial.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado em propriedade privada de produção de ovinos, na região de Londrina-PR, entre abril e maio de 2011. Foram utilizadas 174 ovelhas

múltiparas cruza Texel, com média de escore de condição corporal de 2,5 (escala de 1 a 5, segundo Russel, 1984), e mantidas em pastagem de *Panicum maximum* cv. Aruana, com acesso a sal mineral e água à vontade. Previamente ao início do experimento, as ovelhas foram submetidas ao exame de ultrassonografia com transdutor linear de 5 MHz, com equipamento de ultrassom marca Landwindmedical®, modelo NeuCrystal C40vet, para confirmação da ausência de prenhez e distribuídas aleatoriamente em quatro tratamentos: T1) inseminação artificial cervical (IAC) com sêmen descongelado (SD) e adição de solução tampão fosfato salino (PBS; IAC/SD+PBS; n=49); T2) IAC com SD e adição de plasma seminal ovino (IAC/SD+PS; n=43); T3) grupo controle I: IAC com sêmen fresco diluído (SFD) em PBS (IAC/SFD; n=44); T4) grupo controle II: inseminação artificial por laparoscopia (IAL) com SD e adição de PBS (IAL/SD+PBS; n=38).

Para a indução de cio, utilizou-se o seguinte protocolo hormonal: no dia zero (D0) foram aplicadas esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) e mantidas por 12 dias (D12). Após a remoção das esponjas (D12), foram administradas injeções intramusculares de 400 UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG; Novormon®) e 37,5 µg de cloprostenol sódico (Sincrocio®). A manifestação de cio das ovelhas foi monitorada duas vezes ao dia (8 e 18 horas), a partir da remoção das esponjas até o momento da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), com a utilização de dois rufiões vasectomizados que tinham o peito pintado com tinta específica para marcar o posterior (região sacral) das ovelhas em cio. A IATF foi realizada entre 54 a 60 horas após a retirada das esponjas.

O sêmen utilizado em todos os quatro tratamentos foi obtido de um mesmo carneiro da raça Texel com fertilidade comprovada por avaliação andrológica - turbilhonamento = 4; motilidade progressiva >70%; vigor = 4 e contagem total de células espermáticas de 2,0 a 2,5 x 10⁹/mL em câmara de Neubauer -, a partir da coleta com vagina artificial. Para congelação utilizou-se a metodologia descrita por Anel e De Paz (2003), com sêmen diluído (1:2; sêmen:diluyente – Bovimix®, Nutricell), envasado em palhetas de 0,25mL com concentração de 240x10⁶ e congelado automaticamente na máquina TK3000 SUPER® utilizando o protocolo (P3.S2) descrito pelo fabricante e posteriormente armazenado em botijão de sêmen contendo nitrogênio líquido até o dia da IATF.

O plasma seminal ovino foi coletado de três rufiões vasectomizados, por meio de vagina artificial foi centrifugado a 1500 g por 10 minutos, e colheu-se o sobrenadante

que foi estocado a -20°C até a adição deste ao sêmen descongelado no momento da inseminação cervical. Na data da inseminação, as palhetas foram descongeladas individualmente pela imersão em água a 37°C por 30 segundos, e o conteúdo liberado no interior de um tubo de ensaio mantido em banho-maria a 37°C , contendo igual volume (0,25mL) de PBS ou plasma seminal, conforme o tratamento. Após homogeneização, o volume total de 0,5mL - sêmen descongelado + PBS ou plasma seminal - foi novamente acondicionado em duas palhetas de 0,25mL, sendo as duas utilizadas para inseminar cada uma das ovelhas dos tratamentos T1, T2 e T4.

Para as ovelhas inseminadas via cervical superficial com sêmen fresco diluído, o sêmen foi coletado por vagina artificial, diluído na proporção de 1:2 (sêmen:PBS) e colocado em tubo de ensaio mantido em banho-maria a 37°C com igual volume de PBS. No momento da inseminação eram envasadas duas palhetas de 0,25mL, e as duas (0,5mL) destinadas ao tratamento T3. Todos os tratamentos receberam volume inseminante total de 0,5mL. A inseminação artificial cervical foi realizada utilizando o aplicador de sêmen de ovinos/caprinos da IMV[®]. As ovelhas foram contidas e inclinadas com o posterior sobre cavalete de madeira. Após higiene da vulva, com auxílio de espelho vaginal e lanterna, visualizava-se a cérvix. Posicionou-se o aplicador na entrada da cérvix e administrou-se o conteúdo total de duas palhetas inseminantes, com concentração total de 240×10^6 espermatozoides.

A inseminação por laparoscopia foi realizada com as ovelhas contidas em maca, em decúbito dorsal, com angulação de 45° em relação ao solo. Procedeu-se anestesia local na região ventral com lidocaína a 2%, em dois pontos localizados caudalmente ao umbigo e lateralmente à linha média. O laparoscópio foi introduzido no abdômen empregando-se dois trocateres de 5,5 mm em pontos anestesiados. Com um dos trocateres foi feita a insuflação da cavidade abdominal com ar comprimido e penetração do laparoscópio, e com o outro, introduziram-se um manipulador, para auxiliar a localização do útero e uma pipeta inseminante recoberta com bainha (Aspic[®]), com extremidade perfurante, para permitir sua introdução no lúmen uterino, e deposição de uma dose de sêmen (0,25mL) em cada corno uterino. Decorridos 30 dias após a inseminação, foi realizado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal (Aloka Prosound 2[®], Formedical, dotado de transdutor linear de 5 MHz), para determinação da taxa de prenhez. A análise estatística dos dados foi realizada por regressão linear dicotômica ($P < 0,05$), utilizando o pacote estatístico R (The R Foundation..., 2002).

3. Resultados e Discussão

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) no percentual de ovelhas identificadas em cio pelos rufiões até o momento da IATF (59,2%), em relação às que não foram marcadas (40,8%, $n=71$) pelos rufiões sobre a taxa de prenhez do rebanho. A reduzida quantidade de rufiões - dois animais - utilizada neste experimento fez com que a relação rufião:ovelha (1:87) estivesse acima da proporção frequentemente usada em pesquisas, sugerindo que os rufiões não foram capazes de identificar todas as ovelhas que apresentaram cio, pois 15 ovelhas (8,7%) estavam prenhes no exame de ultrassonografia realizado 30 dias após a inseminação. Neste estudo, a taxa de prenhez média dos quatro tratamentos foi de 24,1%.

A adição de plasma seminal ao sêmen descongelado (Tabela 1) não resultou em diferença significativa ($P>0,05$) na taxa de prenhez de ovelhas inseminadas via cervical superficial, quando comparado ao tratamento que não recebeu plasma. O volume inseminante total (0,5mL) pode ter influenciado negativamente a taxa de prenhez dos tratamentos com sêmen descongelado pela via cervical superficial, por aumentar o volume líquido em relação à concentração espermática, o que proporcionou maior refluxo seminal no momento da inseminação, e por diminuir a quantidade de espermatozóides depositados no primeiro anel cervical. Doses inseminantes com concentrações mais elevadas de espermatozóides no momento da congelação poderiam resolver este problema, quando se tem o objetivo de realizar a inseminação cervical superficial com sêmen descongelado adicionado de plasma seminal, ou qualquer outra substância para melhorar a viabilidade do sêmen congelado.

Tabela 1. Percentual de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo fixo (IATF) pela via cervical, utilizando sêmen descongelado (SD), sêmen descongelado com adição de plasma seminal (SD+PS) e sêmen fresco diluído (SFD)

Tipos de sêmen	n	Prenhez (n)	Prenhez (%)	P-valor
SD	49	2	4,1 b	P<0,001
SD+PS	43	3	7,0 b	
SFD	44	22	50,0 a	

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P<0,05$).

A taxa de prenhez das ovelhas inseminadas via cervical superficial com sêmen fresco diluído foi maior ($P<0,05$) que as outras dos demais tratamentos, com a mesma técnica. Este resultado era esperado, uma vez que a motilidade e o vigor do sêmen fresco, mesmo que diluído, são mais altos que os do sêmen descongelado.

Para estudos futuros, sugere-se avaliar a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas com sêmen descongelado com adição de plasma seminal em porções mais profundas da cérvix. Isso poderia aumentar a viabilidade da técnica, quando utilizada com sêmen descongelado.

Na Tabela 2, verifica-se que a técnica de inseminação cervical superficial resultou em taxa de prenhez (4,1%) menor ($P<0,05$) que a técnica intra-uterina por laparoscopia (39,4%) utilizando sêmen descongelado, no volume total inseminante de 0,5mL (0,25mL/corno uterino).

Tabela 2. Percentual de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo fixo (IATF), pelas técnicas de laparoscopia e cervical, utilizando sêmen descongelado

Técnica de IATF	N Total	Prenhez (n)	Prenhez (%)	P-valor
Laparoscopia	38	15	39,4 a	$P<0,001$
Cervical	49	2	4,1 b	

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P<0,05$).

Quando o efeito dos tipos de sêmen na inseminação via cervical superficial foi isolado e comparou-se ao efeito da inseminação via laparoscopia com sêmen descongelado (Tabela 3), a laparoscopia diferiu ($P<0,05$) da técnica de IA cervical e resultou em maiores taxas de prenhez.

Tabela 3. Percentual de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo fixo (IATF) pelas técnicas de laparoscopia e cervical

Técnica de IATF	N Total	Prenhez (n)	Prenhez (%)	P-valor
Laparoscopia	38	15	39,4 a	$P<0,001$
Cervical	136	27	20,0b	

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P<0,05$).

Não houve diferença ($P>0,05$) quando foram comparadas as taxas de prenhez dos tratamentos com inseminação artificial cervical e sêmen fresco diluído (50,0%) e

inseminação via laparoscopia com sêmen descongelado (39,4%), evidenciando, assim, a escolha da técnica em função do tipo de sêmen utilizado.

A adição de plasma seminal ao sêmen de ovino descongelado quando utilizado pela via cervical superficial não proporcionou taxas de prenhez satisfatórias em rebanhos comerciais de ovinos que possam sustentar a indicação dessa metodologia para substituí-la pela técnica via cervical superficial com sêmen fresco diluído e também pela técnica de laparoscopia com sêmen descongelado. Considera-se que estudos são necessários a fim de identificar os fatores limitantes do uso do sêmen descongelado pela via cervical superficial, bem como os aditivos capazes de melhorar sua viabilidade quando utilizados na inseminação convencional.

Resultados de taxas de prenhez ao redor de 50,0% em rebanhos ovinos comerciais, quando se utiliza a IATF, são considerados satisfatórios, mesmo dentro da estação reprodutiva, pois ao contrário da monta natural com carneiro, em que as ovelhas apresentam pelo menos três oportunidades para serem fecundadas, na IATF essas expressam seu potencial reprodutivo de fecundação do oócito pelos espermatozóides em apenas uma oportunidade.

4. Conclusão

A adição de plasma seminal ao sêmen descongelado e sua deposição pela via cervical superficial durante a inseminação, não elevou o percentual de prenhez em valores que justifiquem a indicação desta biotecnologia em rebanhos comerciais de ovinos.

5. Referências

- ANEL, L.; DE PAZ, P. Field and in vitro assay of three methods for freezing ram semen. **Theriogenology**, v.60, p.1293-1308, 2003.
- BICUDO, S.D., AZEVEDO, H.C., SILVA MAIA, M.S., SOUSA, D.B., RODELLO, L. Aspectos peculiares da inseminação artificial em ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, (supl. 1), p.127-130, 2005.
- EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. *Salamon inseminación artificial de ovejas y cabras*. Zaragoza: Acribia, 1990. 191p.

- GARNER, D.L.; HAFEZ, E.S.E. Espermatozóides e Plasma Seminal. In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. 7 ed. Barueri: Manole, 2004. p.97-140.
- GODFREY, R.W.; COLLINS, J.R.; HENSLEY, E.L.; WHEATON, J.E. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. **Theriogenology**, v.51, p.985-997, 1999.
- KERSHAW, C.M.; KHALID, M.; MCGOWAN, M.R. *et al.* The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. **Theriogenology**, v.64, p.1225-1235, 2005.
- KIRKWOOD, R.N.; VADNAIS, M.L.; ABAD, M. Practical application of seminal plasma. **Theriogenology**, v. 70, p. 1364-1367, 2008.
- MAXWELL, W.M.C.; JOHNSON, L.A. Physiology of spermatozoa at high dilution rates: the influence of seminal plasma. **Theriogenology**, v. 52, p. 1353-1362, 1999.
- R Foundation for Statistical Computing. R version 2.15.0, 2002.
- RABASSA, V.R.; TABELÃO, V.C.; PFEIFER, L.F.M. *et al.* Efeito das técnicas transcervical e laparoscópica sobre a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo-fixo. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, p.127-133, 2007.
- RUSSEL, A. Body condition scoring of sheep. **In Practice**, v.6, n.3, p. 91-93, 1984.
- SALAMON, S.; MAXWELL, W.M.C. Storage of ram semen. **Animal Reproduction Science**, v. 62. p. 77-111, 2000.

CAPÍTULO III - PROTOCOLO HORMONAL CURTO E LONGO SOBRE A FERTILIDADE DE FÊMEAS OVINAS INSEMINADAS EM TEMPO FIXO POR LAPAROSCOPIA COM SÊMEN CONGELADO

Resumo

O presente estudo objetivou avaliar a taxa de prenhez de ovelhas e borregas submetidas a protocolos hormonais para sincronização de estro de curta e longa duração, e inseminadas em tempo fixo durante a estação e contra estação reprodutiva. Utilizaram-se 144 fêmeas, sendo 96 ovelhas da raça Texel (2 a 6 anos) e 48 borregas das raças Suffolk (15 a 18 meses) em quatro experimentos: 1) ovelhas Texel em estação reprodutiva; 2) ovelhas Texel em final de período de anestro sazonal; 3) borregas Suffolk em estação reprodutiva; 4) borregas Suffolk em anestro sazonal. O estro foi induzido por pessário vaginal impregnado com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) por período curto (6 dias) ou longo (12 dias) e na remoção dos dispositivos, foram administrados (IM), 400 UI de eCG (Novormon®) e 37,5 µg Cloprostenol Sódico (Sincrocio®; Prolise®). A IATF realizada entre 54 a 60 horas após a remoção das esponjas foi pela técnica intrauterina por laparoscopia. A ultrassonografia transretal para avaliar a taxa de prenhez, foi realizada após 30 dias da IATF. O resultado de prenhez para protocolo curto e longo foi de 38,1% e 31,3%, 56,5% e 65,0%, 46,7% e 28,6%, 0,0% e 27,3%, respectivamente para os experimentos 1, 2, 3 e 4, não havendo diferença ($P>0,05$) entre os protocolos em nenhum dos experimentos. Protocolos hormonais curtos e longos associados à IATF por laparoscopia com sêmen congelado podem ser indicados para obtenção de taxas de prenhez satisfatória em rebanhos comerciais de ovelhas cíclicas.

Palavras chave: ovelhas, borregas, estação reprodutiva, contra estação reprodutiva.

PROTOCOL HORMONE ON THE LONG AND SHORT OF FERTILITY EWES INSEMINATED AT FIXED TIME LAPAROSCOPY WITH FROZEN SEMEN

Abstract

The present study aimed to evaluate the pregnancy rate of ewes and ewe lambs undergoing hormonal protocols for synchronization of estrus for short and long term periods and inseminated at fixed time during the reproductive season and out of that.

144 females, 96 Texel ewes (2-6 years) and 48 Suffolk ewe lambs (15 to 18 months) were used in four experiments: 1) Texel ewes at breeding season, 2) Texel ewes at late anoestrus period; 3) Suffolk ewe lambs at breeding season; 4) Suffolk ewe lambs at seasonal aneustrous. Oestrus was induced by vaginal devices impregnated with 60 mg of medroxyprogesterone acetate (MPA) for a short period (6 days) or long (12 days) and at the removal of the devices were administered (IM) 400 IU eCG (Novormon ®) and 37.5 mg Sodium cloprostenol (Sincrocio ®; Prolise ®). Between 54 to 60 hours after sponge removal, the animals were inseminated by intrauterine laparoscopy. The transrectal ultrasonography was performed 30 days after insemination to evaluate the pregnancy rate. The result of pregnancy for short and long-term was 38.1% and 31.3%, 56.5% and 65.0%, 46.7% and 28.6%, 0.0% and 27.3% respectively for experiments 1, 2, 3 and 4, there was no difference ($P > 0.05$) between the protocols in any of the experiments. Short and long hormonal protocols associated to insemination by laparoscopy with frozen semen may be indicated to obtain satisfactory pregnancy rates in commercial herds of cyclic ewes.

Key words: ewes, ewe lambs, breeding season, non-breeding season.

1.Introdução

A carne de ovinos é considerada atualmente como o produto de maior importância para o Sistema Agroindustrial (SAG) da ovinocaprinocultura quanto ao valor de mercado; mesmo tendo apresentado uma redução do rebanho mundial em 8%, a produção de carne aumentou 27% (MDIC; ARCO, 2010) e o rebanho brasileiro cresceu 20%, considerando a última década (IBGE, Séries históricas, 2011).

O aumento da produção ainda é considerado insuficiente para abastecer o mercado consumidor interno, obrigando os produtores a melhorarem ainda mais os resultados reprodutivos e consequentemente a oferta de carne para consumo.

Os protocolos hormonais a base de progestágenos tradicionalmente usados por períodos de 12 a 14 dias se apresentam como alternativas de indução e sincronização de estro em ovinos (Abecia et al., 2012), especialmente em épocas de sazonalidade reprodutiva, auxiliando a produção constante de cordeiros para o abate durante o ano. Normalmente esses protocolos estão associados com gonadotropina coriônica equina (eCG) (Liu et al., 2007), e prostaglandinas no momento da retirada dos dispositivos

intravaginais (Pinna et al., 2012). Entretanto, períodos menores de exposição dos dispositivos, que proporcionem maiores índices de fertilidade para diferentes categorias associados à inseminação artificial são pouco explorados (Cox et al., 2012), ao contrário dos estudos nos quais estes são associados a monta natural (Ungerfeld e Rubianes, 1999; Viñoles et al., 2001; Karaca et al., 2009).

A inseminação artificial intrauterina pela técnica de laparoscopia, desenvolvida por Killen e Caffery (1982), para viabilizar a possibilidade de utilização de sêmen congelado (Ghalsasi e Ninbkar 1996), é sem dúvida o mais significativo desenvolvimento de IA em ovinos, pois possibilita superar muitas das dificuldades da IA intravaginal ou intracervical, além de otimizar o número de espermatozoides necessários para uma efetiva fertilização (Cseh et al. 2012).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a taxa de prenhez de ovelhas e borregas submetidas a protocolos hormonais para sincronização de estro de curta e longa duração, e inseminadas em tempo fixo durante a estação e contra estação reprodutiva.

2.Material e Métodos

Realizaram-se quatro experimentos (na estação e na contra estação reprodutiva para ovelhas e borregas) em três propriedades rurais, nas regiões Centro Sul (Candói-PR), Sul (Curitiba-PR), e Campos Gerais (Castro-PR) do Estado do Paraná (22 a 27°S), entre os meses de setembro/2010 a março/2011. Foram utilizadas no total, 144 fêmeas, sendo 96 ovelhas da raça Texel (2 a 6 anos) e 48 borregas das raças Suffolk (15 a 18 meses).

Previamente ao início do experimento, as ovelhas foram submetidas ao exame de ultrassonografia com equipamento de ultrassom marca Aloka Prosound 2®, Formedical, dotado de transdutor linear de 5 MHz para confirmação da ausência de prenhez e distribuídas aleatoriamente entre os grupos para tratamento hormonal.

Os tratamentos hormonais utilizados para indução e sincronização de estro consistiram da aplicação de pessário vaginal (esponja de poliuretano contendo 0,5 ml de Oxitetraciclina) contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona por período de 12 dias (protocolo hormonal longo - PHL) ou 6 dias (protocolo hormonal curto - PHC), seguidos da aplicação de 400 UI de Gonadotropina Coriônica Equina (eCG - Novormon®) e 37,5 µg Cloprostenol Sódico (Sincrocio®; Prolise®) no dia da remoção dos pessários.

A inseminação artificial intrauterina utilizando a técnica de laparoscopia foi realizada em tempo fixo (IATF) entre 52 a 60 horas após a remoção das esponjas em todos os experimentos. As fêmeas eram contidas em maca em decúbito dorsal, com angulação de 45° em relação ao solo. Procedeu-se à tosquia, lavagem (água e sabão) e desinfecção (solução de álcool iodado a 2%) da região abdominal e paramamária, seguida de anestesia local na região ventral com lidocaína a 2%, em dois pontos localizados caudalmente ao umbigo e lateralmente à linha média. O laparoscópio foi introduzido no abdômen empregando-se dois trocatres de 5,5 mm em dois pontos previamente anestesiados. Com o primeiro trocater, realizou-se a insuflação da cavidade abdominal com ar comprimido e a penetração do laparoscópio, e com o segundo trocater, introduziram-se um manipulador, para auxiliar a localização do útero, e uma pipeta de inseminação (IMV®), recoberta com bainha (Aspic®), com extremidade perfurante, para permitir sua introdução no lúmen uterino e deposição da dose de sêmen (0,25 mL) nos dois cornos uterinos, ou seja, metade da dose para cada corno.

Passados 30 dias da IATF, realizou-se o diagnóstico de gestação por meio de ultrassonografia transretal (Aloka Prosound 2®, Formedical, dotado de transdutor linear de 5 MHz), para determinação da taxa de prenhez.

Experimento 1

O estudo foi realizado em propriedade rural particular localizada no município de Candói-PR, no mês de março de 2011 (estação reprodutiva). Utilizaram-se 53 ovelhas Texel, com idade entre dois e seis anos e escore de condição corporal médio de 2,5 (escala de 1 a 5, segundo Russel, 1984), mantidos em pastagem com acesso a água e sal mineral. No início do experimento, as ovelhas foram divididas em dois grupos segundo idade e escore corporal, e 21 fêmeas receberam o protocolo hormonal curto e 32 o protocolo hormonal longo.

Para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) pela técnica de laparoscopia, utilizou-se sêmen (descongelado) de apenas um carneiro da raça Ile de France. Para congelamento (outubro de 2010), o sêmen foi coletado com vagina artificial, diluído numa relação de 1:4 (sêmen:diluyente), e posteriormente envasado em palhetas de 0,25 mL com concentração média de 140×10^6 espermatozóides por dose. O diluyente utilizado foi o Botu-bovi® (Biotech-Botucatu) e o sêmen congelado em máquina automática da marca TK3000SUPER® (TK Tecnologia em Congelamento), seguindo o protocolo P3.S2

recomendado pelo fabricante. Após a temperatura do sêmen atingir -120°C em vapor de nitrogênio líquido, as palhetas foram imersas no nitrogênio líquido e armazenadas em botijão criogênico. O exame subjetivo pós-descongelação acusou 50% de espermatozoides vivos e vigor 3. O exame de termorresistência lento (T.T.L), recomendado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal acusou motilidade progressiva de 40% e vigor 3.

Experimento 2

O experimento foi conduzido em propriedade rural localizada no município de Castro-PR, no início do mês de dezembro de 2011 (final do período de contra estação reprodutiva). Foram utilizadas 43 ovelhas adultas da raça Texel, com idade entre 2 e 5 anos, com escore de condição corporal médio de 3,5 (escala de 1 a 5, segundo Russel, 1984), mantidas em regime de confinamento, com fornecimento de alimento volumoso a base de silagem de milho (3kg/animal/dia), e ração concentrada (200 gramas – ração comercial com 18% de PB) mais 500 gramas de fubá de milho, desde o início do protocolo hormonal, até a data da IATF. Do dia seguinte a inseminação até o 35º dia, a dieta foi composta de ração comercial (200 gramas – ração comercial com 16% de PB), mais 300 gramas de fubá de milho além de silagem de milho (3kg/animal/dia). Durante todo o período experimental os animais tiveram livre acesso à água e suplemento mineral específico para ovinos.

No dia da colocação dos pessários vaginais, as ovelhas foram numeradas individualmente na região das costelas com tinta específica para marcar ovinos e divididas em dois grupos equilibrados segundo a idade e escore de condição corporal, no qual compuseram os grupos de fêmeas submetidas ao protocolo hormonal longo (n=20) e protocolo hormonal curto (n=23).

O sêmen (descongelado) utilizado na inseminação era proveniente de um carneiro da raça Texel, adquirido de uma empresa comercial de congelação e comercialização de sêmen ovino cadastrada pelo Ministério da Agricultura. A avaliação subjetiva do sêmen após a descongelação (37°C por 1,5 minutos), apresentou 50% de espermatozoides com movimento progressivo e vigor 3.

Experimento 3

O experimento foi realizado no Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos (LAPOC) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Curitiba-PR, no mês de março de 2011 (estação reprodutiva). Foram utilizadas 29 borregas da raça Suffolk, com idade média de 18 meses, escore de condição corporal médio de 2,25 (escala de 1 a 5, segundo Russel, 1984) e peso corporal médio igual a 62,78 kg, mantidas em pastagem de *Cynodon* spp cv. Tifton-85, e suplementadas com ração comercial (400 gramas/fêmea/dia), com suplemento mineral e água a vontade.

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foi feita entre

52 a 57 horas com sêmen descongelado de um único carneiro Suffolk PO, com fertilidade comprovada por exame andrológico prévio, apresentando motilidade progressiva de 70% e vigor 3. Para congelação (março/2011), o sêmen foi coletado com vagina artificial, diluído numa relação de 1:4 (sêmen:diluyente), e posteriormente envasado em palhetas de 0,25 mL com concentração média de 150×10^6 espermatozoides por dose. O diluyente utilizado foi o Botu-bovi® (Biotech-Botucatu) e o sêmen congelado em máquina automática da marca TK3000SUPER® (TK Tecnologia em Congelamento), seguindo o protocolo P3.S2 recomendado pelo fabricante. Após a temperatura do sêmen atingir -120°C em vapor de nitrogênio líquido, as palhetas foram imersas no nitrogênio líquido e armazenadas em botijão criogênico. O exame subjetivo pós-descongelamento acusou 50% de espermatozoides vivos e vigor 3.

Experimento 4

Realizado no Laboratório de Produção e Pesquisa em ovinos e Caprinos (LAPOC) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Curitiba-PR, no mês de setembro/2010 (contra estação reprodutiva). Foram utilizadas 19 borregas da raça Suffolk, com idade média de 15 meses, escore de condição corporal média de 2,84 (escala de 1 a 5, segundo Russel, 1984), mantidas em pastagem de *Cynodon* spp. Tifton 85, sobressemeado de azevém anual e eram suplementadas com 0,3 kg de ração comercial (70% NDT; 16% PB), com acesso irrestrito à água e ao suplemento mineral. As borregas foram divididas em dois grupos, sendo que as do grupo 1 (n=11) receberam o protocolo hormonal longo e as do grupo 2 (n=8) o protocolo hormonal curto.

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foi realizada entre 52 a 56 horas após a retirada das esponjas vaginais, sendo que o sêmen utilizado foi congelado de um único carneiro Suffolk PO, com fertilidade comprovada por exame andrológico prévio, apresentando motilidade progressiva de 70% e vigor 3. O sêmen foi coletado com vagina artificial, diluído numa relação de 1:4 (sêmen:diluyente), e posteriormente envasado em palhetas de 0,25 mL com concentração média de 150×10^6 espermatozoides por dose. O diluyente utilizado foi o Botu-bovi® (Biotech-Botucatu) e o sêmen congelado em máquina automática da marca TK3000SUPER® (TK Tecnologia em Congelação), seguindo o protocolo P3.S2 recomendado pelo fabricante. Após a temperatura do sêmen atingir -120°C em vapor de nitrogênio líquido, as palhetas foram imersas no nitrogênio líquido e armazenadas em botijão criogênico. O exame subjetivo pós-descongelação acusou 50% de espermatozoides vivos e vigor 3.

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado, sendo cada animal uma repetição, com dois tratamentos (protocolos). A variável percentual de prenhez foi submetida à análise estatística separadamente, para borregas e ovelhas. Os efeitos de tratamento e as diferenças entre estes e entre os experimentos foram avaliados pelo teste de Qui-quadrado utilizando-se o procedimento CATMOD do software estatístico SAS (SAS Institute, 2002), a 5% de probabilidade. As variáveis peso, escore de condição corporal e percentual de prenhez foram submetidas a análises de correlação pelo método de análises não paramétricas de Spearman, a 5% de probabilidade, pelo software estatístico SAEG (2007).

3. Resultados e Discussão

Os experimentos 1 e 2 com ovelhas multíparas da raça Texel (Tabelas 1 e 2), demonstram que a exposição ao protocolo hormonal por período curto ou longo, não apresentou efeito ($P > 0,05$) sobre a taxa de prenhez, na época de final de contra estação reprodutiva (dezembro de 2011) ou na estação reprodutiva (março de 2011). A raça Texel é considerada com expressiva sazonalidade e de curto período reprodutivo (Mandiki et al., 1995); entretanto, a taxa média de prenhez (60,5%) para ovelhas submetidas a protocolos no final da contra estação reprodutiva foi satisfatória. A média de prenhez das ovelhas inseminadas na estação reprodutiva entre os protocolos foi de 34,7%. A diferença na fertilidade entre os rebanhos experimentais com ovelhas Texel indica a existência de outros fatores, não relacionados aos protocolos, que poderiam

influenciar os resultados encontrados nos diferentes rebanhos. Características como idade da ovelha, mês da IA, técnico responsável pela IA e a fazenda, são reportados como importantes fatores que afetam a fertilidade após a inseminação (Palacín, et al., 2012). A fazenda exerce impacto significativo sobre a fertilidade (Paulenz et al., 2002; Anel et al., 2005), sendo que este efeito pode ser explicado porque a gestão e interação humana-rebanho tem um grande impacto sobre o sucesso da IA, sendo necessária a melhoria nas condições de mão de obra para melhorar os resultados de fertilidade nas fazendas (Palacín, et al., 2012).

Um dos aspectos bastante relatado para mamíferos de interesse zootécnico (bovinos, ovinos, caprinos) é a relação entre a condição corporal e a eficiência reprodutiva. Condição corporal (CC) é a quantidade de tecido muscular e adiposo armazenado pelo corpo do animal em determinado momento do ciclo reprodutivo-produtivo, que serve para estimar a quantidade de energia acumulada, ou seja, o status energético do animal naquele dado estágio fisiológico (Cezar e Souza, 2006).

Em vacas leiteiras, Pryce et al. (2001) encontraram que o escore de condição corporal medido na 10ª semana pós parto apresenta elevada correlação ($P < 0,01$) com a taxa de concepção das vacas ao primeiro serviço, e que pela facilidade de realização da medida e pelos valores de herdabilidade (0,24 a 0,43) deveria ser usado inclusive como critério indireto na seleção para fertilidade.

Cezar e Souza (2006), revisando a literatura, afirmaram que há relação curvilínea entre a condição corporal de ovelhas e alguns parâmetros reprodutivos, ou seja, fêmeas com valores de condição corporal muito baixos (menores que 2) e muito altos (maiores que 3,5) podem ter resultados desfavoráveis em taxas de fertilidade e parição.

Para cabras cíclicas da raça Saanen, Nascimento et al. (2011) observaram que o escore de condição corporal exerceu efeito significativo ($P < 0,05$) sobre a fertilidade. Fêmeas com ECC entre 2,5 e 2,75 tiveram maior taxa de fertilidade (71,43%) que as fêmeas com ECC de 3 a 4,25 (25%). Nesse caso, os autores concluíram que cabras Saanen, inseminadas artificialmente pelo método transcervical, apresentaram fertilidade aumentada quando o escore estava entre 2,5 e 2,75.

Zieba et al. (2005) relataram que o escore corporal está ligado a quantidade de adipócitos e estes tem a propriedade da liberação de leptina, hormônio que exerce influência sobre a liberação do GnRH e conseqüentemente de FSH e LH. Os autores relatam haver correlação de cerca de 90% entre essas variáveis – condição corporal e

concentração dos hormônios – e que os animais com melhor ECC respondem melhor aos protocolos de IATF, resultando em maiores taxas de concepção.

No caso dessa pesquisa, experimentos 1 e 2, realizados com ovelhas múltiparas da raça Texel em março e dezembro, respectivamente, o escore de condição corporal menor dos animais do rebanho experimental 1 (2,5), em relação ao rebanho 2 (3,5), pode ter prejudicado a taxa média de prenhez do primeiro grupo (34,7%), já que houve correlação significativa ($P < 0,05$; $R = 0,42$) entre escore de condição corporal e percentual de prenhez. Destaca-se que o primeiro ensaio foi realizado dentro da estação de reprodução para a espécie, ou seja, quando o número de horas de luz está decrescendo (outono).

Tabela 1. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro, sobre a taxa de prenhez de ovelhas Texel inseminadas em tempo fixo (IATF) por laparoscopia com sêmen congelado na estação reprodutiva

Protocolo hormonal	N total	Prenhez	
		N	%
Curto	21	8	38,1 a
Longo	32	10	31,3 a
Total	53	18	34,7

^a Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa ($P > 0,05$).

Tabela 2. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro, sobre a taxa de prenhez de ovelhas Texel inseminadas em tempo fixo (IATF) por laparoscopia com sêmen congelado no final da contra estação reprodutiva

Protocolo hormonal	N total	Prenhez	
		N	%
Curto	23	13	56,5 a
Longo	20	13	65,0 a
Total	43	26	60,5

^a Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa ($P > 0,05$).

Os experimentos 3 (Tabela 3) e 4 (Tabela 4), realizados com borregas da raça Suffolk, também não apresentaram diferença significativa quanto à taxa de prenhez ($P > 0,05$) para os protocolos hormonais de curta ou longa duração testados na estação ou contra-estação reprodutiva. Por tratar-se de rebanhos experimentais contemporâneos, ou

seja, de mesma raça e mesma época de nascimento e, criados em condições igualitárias de manejo, a menor fertilidade encontrada na primavera (15,8% de prenhez), comparada com a taxa encontrada no outono (38,0%), pode ser atribuída ao período de anestro sazonal que acomete os animais da raça Suffolk.

No caso das borregas Suffolk fertilizadas em março de 2011 (experimento 3), as correlações entre peso, escore corporal e percentual de prenhez (%) não foram significativas ($P>0,05$). Entretanto, para as borregas Suffolk fertilizadas em setembro de 2011 (experimento 4), as análises de Spearman indicaram correlação significativa ($P=0,03$) para as variáveis escore corporal e fertilidade ($r = - 0,42$).

Cabe ressaltar que as variáveis peso corporal (kg) e percentual de prenhez não estiveram correlacionadas ($P>0,05$) em nenhum dos ensaios, indicando a relevância da avaliação do escore de condição corporal para o manejo reprodutivo das ovelhas, como já foi abordado nesse capítulo.

Tabela 3. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro sobre a taxa de prenhez de borregas Suffolk inseminadas em tempo fixo (IATF), por laparoscopia com sêmen congelado, na estação reprodutiva

Protocolo hormonal	N total	Prenhez	
		N	%
Curto	15	7	46,7 a
Longo	14	4	28,6 a
Total	29	11	38,0

^a Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa ($P>0,05$).

Tabela 4. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro sobre a taxa de prenhez de borregas Suffolk inseminadas em tempo fixo (IATF), por laparoscopia com sêmen congelado, na contra estação reprodutiva

Protocolo hormonal	N total	Prenhez	
		N	%
Curto	8	0	0,0 a
Longo	11	3	27,3 a
Total	19	3	15,8

^a Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa ($P>0,05$).

Embora no presente estudo não tenha havido diferença significativa entre os protocolos curto e longo, associados à IATF por laparoscopia, sugere-se a utilização de

protocolos curtos em rebanhos de ovelhas múltiparas cíclicas, por apresentarem maiores percentuais de fertilidade. Viñoles et al. (2001) encontraram ($P<0,05$) maiores taxas de prenhez (87%) para ovelhas múltiparas sincronizadas durante estação reprodutiva somente com pessários de acetato de medroxiprogesterona (MAP - 60 mg) por 6 dias, quando comparado com MAP por 6 dias associado a 250 UI eCG (58%), somente MAP por 12 dias (63%) e MAP por 12 dias associado a 250 UI de eCG (67%) em monta natural, e atribuíram este resultado à ovulação de folículos em crescimento recentemente recrutados pelo grupo com MAP por 6 dias. Todavia, para fêmeas nulíparas sincronizadas durante a contra estação reprodutiva, os protocolos curto (6 dias) e longo (12 dias), não apresentaram diferença na taxa de prenhez de 61,5% e 60,7%, respectivamente, quando submetidas a monta natural (Ungerfeld e Rubianes, 1999).

4. Conclusão

Os protocolos hormonais curtos e longos, associados à inseminação artificial em tempo fixo por laparoscopia com sêmen descongelado, podem ser indicados para obtenção de taxas satisfatórias de prenhez em rebanhos comerciais de ovelhas e borregas em estação reprodutiva.

5. Referências

- ANEL, L., KAABIA, M., ABROUG, B., ALVAREZ, M., ANEL, E., BOIXO, J.C., FUENTE, L.F., PAZ, P. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. **Theriogenology**, v.63, p.1235-1247, 2005.
- CEZAR, M.F.; SOUSA, W.H.de. Avaliação e utilização da condição corporal como ferramenta de melhoria da reprodução e produção de ovinos e caprinos de corte. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 43, **Anais....** João Pessoa, PB, 2006.
- COX, J.F., ALLENDE, R., LARA, E., LEIVA, A., DÍAZ, T., DORADO, J., SARAIVA, F. Follicular dynamics, interval to ovulation and fertility after AI in short-term progesterone and PGF_{2α} oestrous synchronization protocol in sheep. **Reproduction in Domestic Animals**, v.47, p.946-951, 2012.

- CSEH, S., FAIGL, V., AMIRIDIS, G.S. Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. **Animal Reproduction Science**, v.130, p. 187-192, 2012.
- GHALSASI, P.M., NIMBKAR, C. Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. **Small Ruminant Research**, v.23, p. 69-73, 1996.
- KARACA, F., ATAMAN, M.B., COYAN, K. Synchronization of estrus with short- and long-term progestagen treatments and use of GnRH prior to short-term progestagen treatment in ewes. **Small Ruminant Research**, v.81, p.185-188, 2009.
- LIU, X., DAI, Q., HART, E.J., BARRETT, D.M.W., RAWLINGS, N.C., PIERSON, R.A., BARTLEWSKI, P.M. Ultrasonographic characteristics of ovulatory follicles and associated endocrine changes in cyclic ewes treated with medroxyprogesterone acetate (MAP)-releasing intravaginal sponges and equine chorionic gonadotropin (eCG). **Reproduction in Domestic Animals**, v.42, p.393-401, 2007.
- MANDIKI, S.N.M., BISTER, J.L., PAQUAY, R. Effects of progesterone treatment on ovarina and estrous activity and on LH pulsatility and PGF2 α concentration in suckling and non-suckling Texel ewes. **Small Ruminant Research**, v.15, p.265-272, 1995.
- Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior – MDIC, Associação Brasileira de Criadores de Ovinos – ARCO. Estudo de mercado externo de produtos derivados da ovinocaprinocultura. **Méritos**, Passo Fundo, 2010. 168p.
- NASCIMENTO, T.V.C; NOGUEIRA, D.M.; BARBOSA, L.D.; MIRANDA, M. de S.; CORDEIRO, M.F.; LOPES JR, E.S. Influência do escore de condição corporal e da ordem de parição sobre a fertilidade de cabras Saanen submetidas à inseminação artificial transcervical. Congresso Nordeste de Produção Animal, 6º, **Anais...**Mossoró, RN, 2010.
- PALACÍN, I., YANIZ, J.L., FANTOVA, E., BLASCO, M.E., QUINTIN-CASORRAN, F.J., SEVILLA-MUR, E., SANTOLARIA, P. Factors affecting fertility after cervical insemination with cooled semen in meat sheep. **Animal Reproduction Science**, v. 132, p. 139-144, 2012.
- PAULENZ, H., ADNOY, T., FOSSEN, O.H., SODERQUIST, L., BERG, K.A. Effect of deposition site and sperm number on the fertility of sheep inseminated with liquid semen. **Veterinary Record**, v.150, p.299-302, 2002.
- PINNA, A.E., BRANDÃO, F.Z., CAVALCANTI, A.S., BORGES, A.M., SOUZA, J.M.G., FONSECA, J.F. Reproductive parameters of Santa Inês ewes submitted to

- short-term treatment with re-used progesterone devices. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.2, p.333-340, 2012.
- RUSSEL, A. Body condition scoring of sheep. **In Practice**, v.6, n.3, p. 91-93, 1984.
- SAEG, 2007. Sistema para análises estatísticas (Version 9.1). Fundação Arthur Bernardes, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brazil.
- SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM FOR WINDOWS®.Version 9.1. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA, 2002.
- UNGERFELD, R., RUBIANES, E. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. **Animal Science**, v.68, p. 349-353, 1999.
- ZIEBA, D.A.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, G.L. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: A comparative review. **Domestic Animal Endocrinology**, v.29, p.166-185, 2005.

CAPÍTULO IV - DESEMPENHO REPRODUTIVO DE OVELHAS DA RAÇA IDEAL SUBMETIDAS À SINCRONIZAÇÃO DE CIOS COM PROGESTÁGENO POR 6 OU 12 DIAS E INSEMINADAS EM TEMPO FIXO DURANTE A ESTAÇÃO REPRODUTIVA

Resumo

Objetivou-se avaliar o percentual de prenhez de ovelhas da raça Ideal (Polwarth) submetidas à sincronização de cios, de acordo com o tempo de exposição ao progestágeno dos pessários vaginais e o momento da inseminação, durante a estação reprodutiva. No dia 0, as ovelhas (n= 116) submetidas ao protocolo hormonal longo (PHL; 12 dias) receberam um pessário impregnado com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP). No dia 6, os pessários vaginais foram colocados nas ovelhas (n= 103) do protocolo hormonal curto (PHC; 6 dias). No dia 12, todas as ovelhas tiveram os pessários vaginais removidos e cada uma recebeu (IM) injeção de 300 UI de Gonadotropina Coriônica Equina (eCG), 37,5 µg de Cloprostenol Sódico e 1mL (SC) de Moxidectina a 1%. A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foi realizada pela via cervical superficial entre 55h 30min e 61h 30min após a remoção dos pessários, utilizando-se pool de sêmen fresco diluído (1:2). Não houve diferença significativa ($P>0,05$) para o percentual de prenhez entre as ovelhas do PHC e PHL (25,2% e 35,3%, respectivamente). Entretanto, as ovelhas de ambos os grupos, inseminadas entre 55h e 30 min e 58h 30min após a remoção dos pessários, apresentaram menor ($P<0,05$) percentual de prenhez (PHC=16,6%; PHL=28,3%) do que as inseminadas entre 58h 30 min e 61h e 30 min (PHC=32,7%; PHL=42,9%). Conclui-se que ambos os protocolos hormonais curto (6 dias) e longo (12 dias) podem ser aplicados para sincronização de cios em ovelhas durante a estação reprodutiva. Ainda, que o melhor momento para a inseminação artificial em tempo fixo com sêmen fresco diluído é ao redor de 60 h após a remoção dos pessários vaginais, independentemente do tempo (6 ou 12 dias) de exposição ao progestágeno.

Palavras chave: ovinos, pessário vaginal, acetato de medroxiprogesterona, sêmen fresco.

REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF EWES BREED IDEAL SUBMITTED TO SYNCHRONIZE ESTRUS WITH PROGESTOGEN FOR 6 OR 12 DAYS AND INSEMINATED AT FIXED TIME ON BREEDING SEASON

Abstract

The aim was to evaluate the pregnancy rate of Polwarth sheep submitted to estrus synchronization, according to periods of exposition to vaginal pessaries with progestagen and the time of insemination, during the reproductive season. On day 0, sheep (n=116) were submitted to a long-term hormonal protocol (LHP; 12 days) and received a vaginal pessary containing 60 mg of Medroxyprogesterone Acetate (MPA). On day 6, pessaries were implanted in sheep (n=103) of short-term hormonal protocol (SHP; 6 days) group. On day 12, pessaries were removed from all sheep and each one received (IM) an injection containing 400 IU of Equine Corionic Gonadotropin (eCG), 37.5 µg of Sodium Cloprostenol and 1mL (SC) of Moxidectin 1%. Artificial insemination on fixed time was performed accessing the superficial cervical among 55h 30min and 61h 30min after devices removal using a pool of fresh semen (1:2). There was no significant ($P>0.05$) difference on pregnancy rate of ewes from SHP and LHP (25.2% and 35.3%, respectively). However, ewes from both groups that were inseminated from 55 h 30 min to 58h 30 min after devices removal showed lower ($P<0.05$) pregnancy rate (SHP=16.6%; LHP=28.3%) compared those inseminated among 58h 31min and 61h 30 min (SHP=32.7%; LHP=42.9%). We have concluded that both hormonal protocols - short (6 days) and long (12 days) ones - can be used for synchronization of estrus for Polwarth ewes during the breeding season. The best time for fixed-time artificial insemination with fresh diluted semen is about 60 h after removal of vaginal devices regardless of the time (6 or 12 days) of exposure to progestogen.

Key words: ovine, vaginal pessary, medroxyprogesterone acetate, fresh semen

1. Introdução

A cadeia produtiva da carne de cordeiro tem apresentado crescimento no Estado do Paraná, especialmente pela consolidação de cooperativas de produtores e pela entrega regular de desta carne aos mercados consumidores. A fim de atender esta

crescente demanda, há necessidade de implementação de biotecnologias reprodutivas que permitam aumentar a produção.

Neste sentido, protocolos hormonais a base de progestágenos aplicados dentro e fora da estação reprodutiva, com intuito de sincronização de cios, podem ser alternativas interessantes.

O tempo de permanência dos pessários vaginais impregnados com progestágenos é tradicionalmente de 12 a 14 dias. Entretanto o encurtamento deste período, a semelhança do que é aplicado em vacas, teria o potencial de incrementar o percentual de prenhez resultante desta sincronização de cios. Poucos estudos têm sido realizados a fim de elucidar esta questão e, a maioria deles utiliza a monta natural com carneiros como método reprodutivo.

Existem vários protocolos de indução de estro que utilizam variações na dose, duração, no tipo e na via de administração de progestágenos, no momento de aplicação de gonadotrofinas e uso ou não de prostaglandinas. O desenvolvimento folicular é, portanto, manipulado e/ou alterado com o uso de gonadotrofinas e progestágenos exógenos. Isto altera o número e o tempo de persistência dos folículos em desenvolvimento (Fonseca et al., 2007).

Segundo Viñoles et al. (2001), com a evolução do acompanhamento ultrassonográfico da dinâmica folicular ovariana em pequenos ruminantes, concluiu-se que a ovulação de folículos envelhecidos não é desejável e compromete a fertilidade, fazendo com que protocolos de curta duração sejam mais eficientes que os de longa duração.

Os protocolos de “longa duração”, que têm em conta a duração do ciclo estral, com permanência de dispositivos por 12 a 13 dias e administração de eCG no momento da retirada do dispositivo, têm resultado em fertilidade em torno de 65% após inseminações com sêmen congelado/descongelado, 48 a 60 horas após retirada do dispositivo (Gordon, 1997).

A inseminação artificial constitui-se em melhor alternativa para o manejo reprodutivo destas ovelhas com cio sincronizado, uma vez que apresenta diversas vantagens como redução do número de carneiros e dos custos envolvidos.

Desta forma, objetivou-se testar o efeito do encurtamento do período de exposição ao progestágeno dos pessários vaginais para sincronização de cios de ovelhas, de 12 para 6 dias, bem como avaliar o melhor horário para a realização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), de acordo com a duração do protocolo hormonal utilizado (6 e 12 dias).

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido em uma propriedade rural localizada no município de Uruguai-RS, durante o mês de janeiro de 2011, período este de estação reprodutiva. Utilizou-se um total de 219 ovelhas multíparas adultas com idade entre 3 e 5 anos da raça Ideal (Polwarth), tosquiadas, com escore de condição corporal (ECC) médio de 3,0 (escala de 1 a 5, conforme Russel, 1984). Todas as ovelhas eram criadas e mantidas em sistema extensivo com pastagem de campo nativo, tendo a disposição água e sal mineral. Previamente ao início do experimento, as ovelhas foram submetidas ao exame de ultrassonografia com equipamento de ultrassom marca Aloka Prosound 2®, Formedical, dotado de transdutor linear de 5 MHz para confirmação da ausência de prenhez e distribuídas aleatoriamente entre os grupos para tratamento hormonal.

No início do experimento (dia 0), as ovelhas foram numeradas na região das costelas com tinta específica para marcar ovinos, e divididas em dois grupos, distribuídas de forma homogênea, de acordo com o escore de condição corporal. Neste momento, as ovelhas do grupo 1 (n=116) foram submetidas ao protocolo hormonal longo (PHL) receberam um pessário vaginal (esponja de poliuretano) impregnado com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) e, seis dias mais tarde (dia 6), os pessários foram inseridos nas ovelhas do grupo 2 (n=103) com protocolo hormonal curto (PHC). Anterior à inserção dos pessários injetou-se 0,2 mL de Oxitetraciclina LA (Terramicina LAR) em cada pessário vaginal, com objetivo de prevenir infecções do trato reprodutivo das fêmeas. Os pessários foram administrados com aplicador específico, sendo este desinfetado com solução a base de amônia quaternária entre uma ovelha e outra.

Os pessários de todas as ovelhas foram removidos no dia 12 (D12) e, neste momento, cada ovelha recebeu injeção intramuscular (IM) de 300 UI de Gonadotropina Coriônica Equina (eCG; Novormon®), 37,5 µg de Cloprostenol Sódico (Prolise®) e 1 mL via subcutânea (SC) de antiparasitário Moxidectina a 1% (Cydectin Ovinos®, Fort Dodge).

Para a inseminação artificial foi utilizado *pool* de sêmen fresco proveniente de 4 carneiros da raça Ideal com fertilidade comprovada em exame andrológico. Após a colheita do sêmen com vagina artificial, o mesmo foi mantido em banho-maria a 30°C por alguns minutos e avaliada uma gota pura ao microscópio (objetiva de 10x) quanto ao turbilhonamento (mínimo de 3; escala de 1 a 5). Em seguida, o sêmen foi diluído na

proporção de 1:2 (sêmen: diluente) com diluente (q.s.p. 100 ml) a base de citrato de sódio (2,37g), glicose (0,80g) e gema de ovo (20 ml); (adaptado de Salamon e Maxwell, 2000) e uma gota avaliada entre lamina e lamínula (objetiva de 20x) quanto a motilidade progressiva ($\geq 50\%$) e vigor (≥ 3). Na sequência, o sêmen diluído foi envazado em palhetas de 0,25ml que foram mantidas em banho-maria a 30°C (recipiente isotérmico), até a montagem no aplicador de sêmen específico para ovinos e caprinos (IMV® - França). O volume da dose inseminante foi de 0,25 ml/ovelha (1 palheta fina/ovelha) contendo 200×10^6 de espermatozoides totais por dose.

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foi realizada simultaneamente nos grupos 1 e 2 por dois médicos veterinários, pela via cervical superficial, entre 55 horas e 30 minutos e 61 horas e 30 minutos (das 16:30 as 22:30 horas) após a remoção dos pessários vaginais (9:00 horas). As ovelhas eram contidas com os membros posteriores suspensos, e inclinados em ângulo de 45°, em relação ao solo, diretamente no brete de contenção (de ferro e desmontável). Procedia-se a higienização externa da genitália com papel toalha, e com auxílio de espéculo vaginal (15 cm) e fonte de luz, localizava-se a cervix e fazia-se a deposição do sêmen no primeiro anel cervical com aplicador de sêmen para ovinos e caprinos IMV®. Imediatamente após a deposição do sêmen na cervix, procedia-se a anotação do horário de inseminação em planilha.

O diagnóstico de prenhez foi realizado por ultrassonografia transretal (Mindray 3300R, dotado de transdutor linear retal de 5 MHz) 30 dias após a data da IATF.

O experimento foi conduzido em delineamento fatorial 2 x 2 (dois protocolos e 2 horários de inseminação). Os efeitos de tratamentos e as diferenças entre estes sobre a variável percentual de prenhez foram avaliados pelo teste de Qui-quadrado utilizando-se o procedimento CATMOD do software estatístico SAS (SAS Institute, 2002), a 5% de probabilidade.

3. Resultados e Discussão

Os resultados em percentual de prenhez (%) das ovelhas submetidas aos dois protocolos e aos dois horários de inseminação são apresentados na Tabela 1. Não houve interação significativa ($P>0,05$) entre protocolos e horários de inseminação.

Tabela 1. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro sobre a taxa de prenhez de ovelhas da raça Ideal inseminadas em tempo fixo (IATF) em dois horários, pela via cervical superficial com sêmen fresco diluído, na estação reprodutiva

Horário da IATF	Protocolo Curto		Protocolo Longo	
	N	Prenhez (%)	n	Prenhez (%)
55 h 30 min a 58 h 30 min	48	16,6% Aa	60	28,3% Aa
58 h 31min a 61 h 30 min	55	32,7% Ab	56	42,9% Ab
Total	103	25,2% A	116	35,3% A

^{A,B}Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma linha não apresentam diferença estatística ($P>0,05$) a 5%.

^{a,b}Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna apresentam diferença estatística ($P<0,05$) a 5%.

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) no percentual de prenhez entre as ovelhas submetidas ao protocolo curto (25,2%) e longo (35,3%), considerando o total de ovelhas inseminadas sob cada protocolo, independente do horário de inseminação. Encontrou-se diferença ($P<0,05$) entre horários de inseminação, sendo maior a taxa de prenhez das ovelhas inseminadas entre 58 horas e 31 minutos a 61 horas e 30 minutos para os protocolos hormonais, curto (32,7%) e longo (42,9%). Ungerfeld e Rubianes (1999) já haviam demonstrado a similaridade entre protocolos curtos de (6 e 9 dias) e de protocolos longos de (12 dias) de sincronização de estro com MAP sobre a taxa de prenhez de fêmeas nulíparas e múltiparas da raça Ideal (Polwarth) e cruzadas Ideal x Ile de France, quando submetidas a monta natural durante o anestro sazonal.

Da mesma forma, Rocha et al. (2010) não obtiveram diferença significativa nos percentuais de prenhez de ovelhas submetidas ao protocolo curto (6 dias) ou longo (12 dias) de exposição ao progestágeno e submetidas a monta natural após a retirada dos implantes vaginais. Entretanto, Viñoles et al. (2001) detectaram maior percentual de prenhez em ovelhas cíclicas submetidas ao protocolo curto de 6 dias em comparação ao protocolo longo de 12 dias de exposição a medroxiprogesterona, quando expostas aos carneiros após a remoção dos pessários vaginais. Esses autores ressaltam a possibilidade de melhores percentuais de prenhez com o uso de protocolos mais curtos, alegando que a ovulação de folículos envelhecidos nos protocolos longos pode prejudicar a fertilidade das ovelhas.

Cavalcanti et al. (2006) submeteram ovelhas Santa Inês e mestiças Santa Inês x Dorper à indução de estro sincronizado com seis dias de progestágeno (60mg MAP) e administração de prostaglandina e eCG 24 horas antes da retirada da esponja. Neste estudo, as taxas de gestação foram 52 e 38 % para a monta natural e inseminação por laparoscopia (IATF 55 h), respectivamente.

A literatura é divergente quanto ao melhor horário para inseminação na IATF, citando desde 48 até 60 horas após a retirada do dispositivo intra-vaginal. Esses horários estão relacionados ao momento de ovulação para a maioria das fêmeas (Rocha, 2007), sendo que para ovelhas da raça Merina, Maxwell (1986) encontrou ovulação entre 55,8 e 59,7 horas após a remoção das esponjas impregnadas com MAP. Bicudo et al. (2005) afirmaram que as inseminações por laparoscopia são realizadas de maneira sistemáticas entre 55 e 60 horas após a retirada dos dispositivos vaginais e aplicação do eCG, de maneira a constituir-se num sistema de inseminação artificial em tempo pré-estabelecido (IATF) com uso consagrado na espécie ovina.

Karagiannidis et al. (2001) avaliando o efeito de diferentes horários (48 e 60 horas; 60 e 72 horas; 48 e 72 horas) com dupla inseminação (cervical superficial com sêmen fresco diluído) após a remoção das esponjas de MAP durante a contra estação reprodutiva, encontrou efeito ($P<0,01$) do momento da inseminação entre as diferentes raças utilizadas. Portanto o horário da inseminação após a retirada da esponja, nos programas de IATF assim como o fator raça, podem influenciar as taxas de prenhez dos diferentes grupos raciais.

Emsen et al. (2011), avaliaram a resposta reprodutiva de 415 ovelhas sincronizadas com acetato de melengestrol (MGA) por 9 ou 12 dias seguido de inseminação artificial por laparoscopia com sêmen fresco diluído, e encontraram taxa de prenhez média de 41% e 44%, respectivamente para os protocolos. Relataram que houve um aumento significativo ($P<0,05$) na taxa de prenhez das ovelhas quando inseminadas em 11 (38%), 16 (52%) e 17 a 18 horas (63%) após a detecção de estro.

Gilberti e Monreal (2008) descrevem diversos resultados para diferentes raças, sempre com períodos mais favoráveis acima de 48 horas para a IATF, independente da técnica utilizada. No caso de sua pesquisa, os autores concluíram que com ovelhas da raça Santa Inês inseminadas por laparoscopia com sêmen congelado, o melhor intervalo de horário para a realização da inseminação está entre 48 e 60 horas. Contreras-Solis et al. (2009), trabalharam com ovelhas para produção de lã, e compararam procedimentos

de IATF em horários entre 48 e 55 horas após retirada dos dispositivos vaginais, em protocolo de 12 dias, e encontraram resultados superiores em prenhez para a IATF realizada ao redor de 48 horas (62,5% e 44%, respectivamente).

Nota-se então que, quanto aos horários de inseminação, o resultado apresentado para as ovelhas da raça Ideal confirma o que está relatado na literatura, no qual a IATF realizada mais tardiamente (58h 31 min a 61h e 30 min) após remoção dos dispositivos com progestágenos resultou em maior taxa de prenhez.

4. Conclusão

Conclui-se que ambos os protocolos hormonais, curto (6 dias) e longo (12 dias) podem ser aplicados para sincronização de cios em ovelhas da raça Ideal durante a estação reprodutiva. Ainda, que o melhor momento para a inseminação artificial em tempo fixo com sêmen fresco diluído ocorre ao redor de 60 h após a remoção dos pessários vaginais, independentemente do tempo (6 ou 12 dias) de exposição ao progestágeno.

5. Referências

- BICUDO, S.D., AZEVEDO H.C., SILVA MAIA M.S., SOUSA D.B., RODELLO L. Aspectos peculiares da inseminação artificial em ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33 (Supl 1): 127-130, 2005.
- CAVALCANTI, A.S., FONSECA, J.F., NOGUEIRA, L.A.G., BRANDÃO, F.Z., SILVA, A.L.S., PINHO, T.G., PINNA, A.E., CARVALHO, B.C.. Efeito do GnRH na taxa de gestação em protocolos de sincronização de estro em ovelhas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34: 384, 2006.
- CONTRERAS-SOLIS, B. VASQUEZ, T. DIAZ, C. LETELIER, A. LOPEZ-SEBASTIAN, A. GONZALEZ-BULNES. [Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and “male effect”](#). **Theriogenology**, v. 71, n. 6: 1018-1025, 2009
- DZIUK, P. Estimation of optimum time for insemination of gilts and ewes by double-mating at certain times relative to ovulation. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 22: 277-282, 1970.

- EMSEN, E., GIMENEZ-DIAZ, C. KUTLUCA, M., KOYCEGIZ, F. Reproductive response of ewes synchronized with diferente lengths of MGA treatments in intrauterine insemination program. **Animal Reproduction Science**, v.126, p.57-60, 2011.
- FONSECA, J.F. da; SOUZA, J.M.G. de; BRUSCHI, J.H. Sincronização de estro e superovulação em ovinos e caprinos. 2º Simpósio de Caprinos e Ovinos. **Anais...Escola de Veterinária, UFMG**, 2007.
- GILBERTI, M.; MONREAL, A.C.R. Identificação do intervalo de tempo fixo para o emprego da inseminação artificial laparoscópica com sêmen congelado em ovelhas Santa Inês. **Agrarian**, v.1, n.2: 123-132, 2008.
- GORDON I. Controlled reproduction in sheep and goats. Cambridge, UK: University Press, 1997, 273 p.
- KARAGIANNIDIS, A., VARSAKELI, S., KARATZAS, G., BROZOS, C. Effect of time of artificial insemination on fertility of progestagen and PMSG treated indigenous Greek ewes, during non-breeding season. **Small Ruminant Research**, v.39, p.67-71, 2001.
- MAXWELL, W.M.C. Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronized oestrus. 1. Effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. **Animal Reproduction Science**, v.10, p.301-308, 1986.
- ROCHA, D. C. Efeito da concentração de sêmen e do horário de inseminação artificial a tempo fixo sobre a taxa de prenhez de fêmeas bovinas de corte. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Veterinária. UFRGS, Porto Alegre, RS. 2007. 54 p.
- ROCHA, R., BRAGANÇA, J.F.M., ZIELINSKI, C., LEAL, M., CECIM, M. Resposta reprodutiva de ovelhas a tratamentos com progestágeno por 6 ou 12 dias associados a análogos de prostaglandina. **A Hora Veterinária**, v.29, p.33-34, 2010.
- RUSSEL, A. Body condition scoring of sheep. **In Practice**, v.6, n.3, p. 91-93, 1984.
- SALAMON, S., MAXWELL, W.M.C. Storage of ram semen. **Animal Reproduction Science**, v.62, p. 77-111, 2000.
- SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM FOR WINDOWS®.Version 9.1. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA, 2002.
- VIÑOLES, C., FORSBERG, M., BANCHERO, G., RUBIANES, E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. **Theriogenology**, v.55, p.993-1004, 2001.

UNGERFELD, R., RUBIANES, E. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. **Animal Science**, v.68, p. 349-353, 1999.

CAPÍTULO V - PROTOCOLO HORMONAL CURTO E LONGO DE INDUÇÃO DE CIO E FERTILIDADE DE BORREGAS WHITE DORPER X SUFFOLK INSEMINADAS EM TEMPO FIXO NA CONTRA ESTAÇÃO REPRODUTIVA

Resumo

O objetivo foi avaliar o efeito de protocolo hormonal curto e longo sobre a indução de cio e fertilidade de borregas cruzada White Dorper (WD) x Suffolk, inseminadas em tempo fixo e repassadas em monta com carneiro na contra-estação reprodutiva. Foram utilizadas 37 borregas divididas em dois grupos, sendo 17 submetidas ao protocolo longo (PHL; 12 dias), e 20 ao protocolo curto (PHC; 6 dias). No início dos protocolos, as borregas receberam pessário intravaginal com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP). Na remoção dos pessários, aplicou-se 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG; Novormon®) e 37,5 µg de Cloprostenol Sódico (Sincrocio®). O cio foi monitorado por dois rufiões, um para cada lote. A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foi realizada entre 54 e 60 horas após remoção dos pessários. O sêmen foi coletado com vagina artificial de um macho WD, diluído e mantido em temperatura de 35°C, durante a IATF. Após duas semanas da IATF, as borregas foram repassadas por monta natural por 14 dias com o reprodutor WD. Foram realizados dois diagnósticos de gestação, o primeiro 30 dias após a IATF e o segundo 30 dias após término do repasse. Não houve diferença ($p>0,05$) entre a apresentação de cio (80,0% e 88,2%) e taxa de prenhez (60,0% e 29,4%) das borregas dos protocolos hormonais, curto e longo. Os protocolos hormonais foram eficientes para indução e sincronização de cio das borregas na contra estação reprodutiva.

Palavras chave: sêmen fresco diluído, ovinos, inseminação cervical.

SHORT AND LONG HORMONAL PROTOCOL OF INDUCTION OF ESTRUS AND FERTILITY IN EWE LAMBS WHITE DORPER X SUFFOLK INSEMINATED AT FIXED TIME AT NON-BREEDING SEASON

Abstract

The objective was to evaluate the effect of short and long hormonal protocols on induction of estrus and fertility for White Dorper (WD) x Suffolk crossbreed ewe lambs inseminated at fixed time and passed on to ram at non-breeding season. 37 female lambs

were divided into two groups with 17 submitted to the long protocol (LHP, 12 days) and 20 to the short protocol (SHP, 6 days). At the beginning of the protocols, the female lambs received pessary for intravaginal 60 mg medroxyprogesterone acetate (MAP). On removal of pessaries it was applied 400 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG; Novormon ®) and 37.5 g Sodium cloprostenol (Sincrocio ®). Oestrus was monitored by two ruffians, one for each batch. The fixed-time artificial insemination was performed between 54 and 60 hours after removal of pessaries. Semen was collected from a ram WD by artificial vagina and it was diluted and maintained at 35 ° C during the insemination. After two weeks of the insemination, animals were submitted to natural service for 14 days with WD ram. There were two diagnoses of pregnancy, after first 30 days of insemination and after the second period of 30 days after the end of natural service. No significant differences were noted ($p > 0.05$) between the presentation of estrus (80,0% and 88,2%) and pregnancy rate (60,0% and 29,4%) of ewe lambs for short and long hormonal protocols. The hormonal protocols were effective for induction and synchronization of estrus in ewe lambs at non-breeding season.

Key words: fresh diluted semen, ovine, cervical insemination

1. Introdução

A redução ou ausência de ciclos reprodutivos regulares das ovelhas criadas na região sul do Brasil, especialmente na época de primavera, tem sido apontado como um dos principais entraves para o fornecimento regular de cordeiros para abate, podendo muitas vezes desestimular a instalação de novas plantas frigoríficas ou até mesmo inviabilizar economicamente a manutenção de estruturas já implantadas para abate de ovinos.

Alternativas para reduzir a estacionalidade reprodutiva das ovelhas têm sido praticadas nos rebanhos comerciais, como utilização de efeito macho, *flushing* alimentar (fornecimento de alimentos concentrados por períodos que antecedem a estação reprodutiva e se mantêm durante esta fase), e até cruzamentos com animais de raças de menor estacionalidade.

A utilização de tratamentos hormonais para indução e sincronização de cio e ovulação é menos usada pelos produtores de ovinos comerciais, embora proporcione aspectos positivos ao manejo, como a redução do período de estação de monta,

maximização no uso de reprodutores com genética superior, otimização de mão de obra, redução no período de nascimento e formação de lotes mais homogêneos de cordeiros para abate. Os protocolos com esponjas intravaginais impregnadas com progesterona são tradicionalmente usados por um período entre 12 a 14 dias, seguidos de monta natural com carneiros ou até inseminação artificial na estação reprodutiva e tem proporcionado boas taxas de fertilidade nos rebanhos (Ungerfeld e Rubianes, 1999a). Já, os resultados de fertilidade dos rebanhos com uso do pessário intravaginal impregnado com progesterona sintética por um período menor de tempo sugere boas taxas de prenhez na estação reprodutiva com monta natural (Viñoles et al., 2001), porém ainda não apresentam resultados conclusivos, principalmente na contra estação reprodutiva, ou seja, primavera. Protocolos curtos de indução e sincronização de cio, associados à técnicas de inseminação artificial na contra estação reprodutiva, poderiam auxiliar na manutenção de cordeiros para abate em períodos de escassez deste produto. Bicudo et. al. (2005) destacam que a inseminação artificial, com sêmen fresco ou refrigerado comparada ao sêmen congelado, apresenta maiores chances de popularização, por requerer técnicas menos sofisticadas de deposição do sêmen no genital feminino, equipamentos menos onerosos e menor rigor na cronologia do momento da inseminação.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de protocolo hormonal curto e longo sobre a indução de cio e fertilidade de borregas White Dorper x Suffolk, inseminadas em tempo fixo pela via cervical superficial com sêmen fresco diluído e, repassadas com carneiro em monta natural na contra estação reprodutiva.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido no mês de outubro de 2011, no Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos (LAPOC), da UFPR, em Pinhais-PR. Foram utilizadas 37 borregas White Dorper x Suffolk, sadias, com média de 12 meses de idade, peso médio de 54,2 kg, escore de condição corporal médio igual a 2,9 (escala de 1 a 5, segundo Russel, 1984). As borregas eram alimentadas com pastagem de *Cynodon spp* cv. Tifton 85, suplementadas com ração concentrada farelada (16% PB) (0,2 kg/animal/dia), tendo a disposição água e suplemento mineral. As borregas foram divididas em dois grupos, sendo 17 submetidas ao protocolo hormonal longo (PHL) e,

as outras 20, ao protocolo hormonal curto (PHC) de indução de cios. As mesmas nunca haviam sido anteriormente expostas ao macho.

No dia 0, as borregas do PHL receberam pessário intravaginal impregnado com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP). Após 6 dias (dia 6), os pessários de MAP foram inseridos nas borregas do PHC. No dia 12, removeram-se todos os pessários e aplicou-se por via intramuscular (IM) 400 UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG; Novormon®) e 37,5 µg de Cloprostenol Sódico (Sincrocio®). A manifestação de cio das borregas desde a remoção das esponjas, até o momento da inseminação foi monitorada por dois rufiões vasectomizados. A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foi realizada entre 52 e 56 horas após a remoção dos pessários. Utilizou-se a técnica de IA cervical superficial, com a utilização do aplicador para ovinos e caprinos IMV®. O sêmen utilizado na IA foi proveniente de um carneiro sadio de 18 meses de idade da raça White Dorper, colhido com vagina artificial momentos antes da inseminação, avaliado em microscópio para comprovar a capacidade fertilizante (motilidade progressiva de 70% e vigor 4) e a concentração espermática ($2,4 \times 10^9/\text{ml}$), e mantido em temperatura de 35° C até posterior diluição de uma parte de sêmen para duas partes de diluente (1:2). O diluente era composto de citrato de sódio (2,37 g), glicose (0,80 g), gema de ovo (20 mL) e água destilada (q.s.p. 100 mL), adaptado de Salamon e Maxwell (2000). Realizou-se contagem dos espermatozóides a partir de uma amostra de sêmen diluído, resultando em média de 200×10^6 espermatozóides totais na dose inseminante. No momento da inseminação, o sêmen diluído era envasado em palheta de 0,25 ml e aplicado via cervical superficial. Passados 14 dias da IATF, foi realizado repasse das borregas por monta natural (MN) com o mesmo carneiro durante duas semanas.

O diagnóstico de prenhez foi realizado por exame de ultrassonografia transretal, com aparelho de ultrassom Landwind C40® (transdutor linear de 5MHz), em datas distintas para diferenciar a prenhez das borregas pela IATF e pelo repasse com o carneiro, sendo o primeiro exame diagnóstico realizado após 30 dias da IATF e o segundo após 30 dias do término do repasse.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, tendo os animais como repetições. Os efeitos de tratamentos e as diferenças entre estes sobre as variáveis, percentual de prenhez e expressão de cio foram avaliados pelo teste de Qui-quadrado utilizando-se o procedimento CATMOD do software estatístico SAS (SAS Institute, 2002), a 5% de probabilidade. As variáveis peso, escore de condição corporal e

percentual de prenhez foram submetidas a análises de correlação pelo método de análises não paramétricas de Spearman, a 5% de probabilidade, pelo software estatístico SAEG (2007).

3. Resultados e Discussão

Os resultados de expressão de cio monitorados pelos rufiões e a fertilidade das borregas confirmadas pelo diagnóstico de prenhez por ultrassonografia, estão apresentados na Tabela 1. Os percentuais de apresentação de cio nas borregas após o término dos protocolos hormonais foram de 80 e 88,2% para os protocolos curto e longo, respectivamente. Não houve diferença significativa ($P>0,05$) para esta variável, entre os protocolos avaliados. De 16,2% (6/37) das borregas que não foram marcadas pelos rufiões desde a retirada dos pessários até o momento da inseminação, 5,4% (2/37) pertenciam ao protocolo longo e 10,8% (4/37) ao protocolo curto. Entretanto, ao término do período experimental, todas as borregas do protocolo curto estavam prenhes, metade fertilizada pela IATF e a outra metade pelo repasse com monta natural. Já as 5,4% (2/37), das borregas do protocolo longo que não foram marcadas pelo rufião, também não foram fertilizadas durante os dois métodos reprodutivos (IATF e MN). Portanto, os resultados demonstram que os protocolos hormonais mostraram-se eficientes para indução de cio das borregas no período de primavera, onde normalmente existe ausência ou baixa atividade reprodutiva da maioria das fêmeas ovinas na região Sul do país.

Tabela 1. Expressão de cio (%) e percentual de prenhez de borregas White Dorper x Suffolk submetidas a protocolo hormonal curto e longo de indução de cio, e inseminadas em tempo fixo (IATF) pela via cervical superficial com sêmen fresco diluído

Protocolo	Total (N)	Cio			Prenhez IATF		
		N	%		N	%	
Curto	20	16	80,0 a	P=0,4135	12	60,0 a	P=0,0624
Longo	17	15	88,2 a		5	29,4 a	
Média			84,1			44,7	

^a Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem ($P>0,05$) a 5%.

A análise estatística da variável taxa de prenhez das borregas White Dorper x Suffolk entre o protocolo hormonal curto e longo demonstrou não haver diferença significativa entre os tratamentos. Entretanto considerando o grau de significância (5%) e o valor de $P=0,0624$, sugere-se haver diferença entre os protocolos, já que a diferença numérica e percentual de fêmeas prenhes do protocolo hormonal curto superou em 100% o valor do protocolo hormonal longo. O pequeno número de animais disponíveis para cada um dos tratamentos pode ter dificultado a expressão de diferença significativa entre as taxas de prenhez para cada protocolo.

Observa-se que, mesmo quando foram submetidas à atividade reprodutiva na primavera, com uma única oportunidade de fertilização pela inseminação artificial em tempo fixo, as borregas apresentaram percentual médio de prenhez de 44,7% (Tabela 1), valores que podem ser considerados como de excelente resultado para animais jovens nessa época do ano, conforme já foi relatado em capítulos anteriores. Zeleke et al. (2005), avaliaram a sincronização de estro e fertilidade de ovelhas multíparas da raça Dorper, sincronizadas com MAP por 14 dias e recebendo 300 UI de eCG obtiveram valores de 75%, 94,6% e 126,2%, respectivamente, para taxa de prenhez, taxa de nascimento e prolificidade, quando inseminadas com sêmen fresco diluído no final do período reprodutivo. Embora estes valores sejam superiores aos do presente estudo, há de considerar-se a diferença entre as categorias avaliadas e os diferentes períodos analisados.

A recente introdução das raças Dorper e White Dorper no Brasil tem gerado interesse por parte dos produtores, pois elas foram desenvolvidas para apresentar características desejáveis como boa conformação e distribuição de gordura na carcaça, rápido desenvolvimento, resistência a verminoses e poliétrica não estacional (Milne, 2000), ou seja, para produzir carcaças de qualidade, com frequência e em pouco tempo (Amaral, 2010). Entretanto, na África do Sul, onde a raça se originou, taxas de concepção de 51, 58 e 63 % foram obtidas com 669 ovelhas Dorper colocadas em monta em 3 estações reprodutivas (fevereiro/março; junho/julho; outubro/novembro), havendo diferença significativa ($P<0,05$) entre o percentual de prenhez da primeira e da terceira época de reprodução (Schoeman e Burger, 1992). Os autores concluíram que a raça apresentava estacionalidade reprodutiva.

O presente resultado difere do encontrado pelo mesmo grupo de pesquisa, avaliando a fertilidade de 68 borregas $\frac{1}{2}$ Ile de France x Texel inseminadas em tempo

fixo (IATF), onde o protocolo hormonal longo apresentou maiores ($p<0,05$) taxas de prenhez do que protocolo hormonal curto (Prado et al., 2011).

Das borregas que se mantiveram vazias após a IATF, sendo 12 do protocolo hormonal longo e 8 do protocolo hormonal curto, 58,3% (7/12) e 50% (4/8), respectivamente foram fertilizadas após a monta natural. Embora não tenha havido diferença significativa ($P>0,05$) entre estes percentuais de prenhez, o protocolo hormonal curto manteve a mesma tendência da taxa de prenhez pela IATF, ou seja, maior que o percentual do protocolo longo. A introdução de carneiros previamente isolados (efeito macho) induz a um rápido aumento na frequência de pulso de LH e consequentemente ovulação em algumas ovelhas, que podem tornar-se prenhes (Ungerfeld e Rubianes, 1999b). Esses mesmos autores indicam que o efeito macho pode ser usado em combinação com os tratamentos tradicionais de progestágenos para diminuir o intervalo de estro e induzir a sincronização durante a estação reprodutiva. Este efeito pode ter contribuído com a taxa de prenhez encontrada no repasse, embora as borregas já teriam sido expostas a rufiões por curto período (48 horas) logo após a retirada das esponjas até o final da IATF. O intervalo de 14 dias (final da IATF e o início do repasse) para a reintrodução dos carneiros mesmo que esteja bem abaixo do período considerado para manifestação de efeito macho, 60 dias (Fonseca, 2005), houve estímulo ao aparecimento de cio nas fêmeas deste estudo. Signoret et al. (1982) mostraram que intervalos curtos (8 e 24 horas) de exposição aos rufiões induziram resposta reprodutiva em ovelhas, embora a resposta não tenha sido tão acentuada quanto à que as ovelhas tiveram aos 4 e 15 dias de exposição. Kenyon et al. (2008) encontraram que períodos curtos (2 a 4 dias) de exposição a carneiros podem ser usados para induzir a atividade reprodutiva, embora um período de exposição de 17 dias ao rufião seja mais efetivo.

Ao término do período experimental obteve-se uma taxa de prenhez média de 75,3%, considerando-se a inseminação artificial em tempo fixo (80,0%) e o repasse com monta natural (70,6%).

Não houve correlação significativa ($P>0,05$) entre peso ($P=0,39$) e escore corporal ($P=0,37$) e a taxa de fertilidade das borregas do presente estudo.

4. Conclusão

Os protocolos hormonais, curto (6 dias) e longo (12 dias) mostram-se eficientes para indução e sincronização de cio. O protocolo curto pode ser sugerido como melhor alternativa para inseminação em tempo fixo em borregas White Dorper x Suffolk na contra estação reprodutiva com sêmen fresco diluído.

5. Referências

- AMARAL, R. M. do. Desempenho e características de carcaça de cordeiros de diferentes genótipos, abatidos com três espessuras de gordura subcutânea. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2010.
- BICUDO, S.D., AZEVEDO, H.C., SILVA MAIA, M.S., SOUSA, D.B., RODELLO, L. Aspectos peculiares da inseminação artificial em ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33 (Supl 1), p.127-130, 2005.
- FONSECA, J.F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16, **Anais...**Goiânia, GO, 2005.
- KENYON, P.R., MOREL, P.C.H., MORRIS, S.T., WEST, D.M. A note on the effect of vasectomized rams and short-term exposures to entire rams prior to the breeding period on the reproductive performance of ewe lambs. **Applied Animal Behaviour Science**, v.110, p.397-403, 2008.
- MILNE, C. The history of the Dorper sheep. **Small Ruminant Research**, v. 36, p.99-102, 2000.
- PRADO, O.R., BASTOS, G.M., SAAB, B.B., FRANÇA, M.R., HENTZ, F., FERREIRA, R. Fertilidade de borregas submetidas a protocolo curto ou longo de indução de cios e inseminadas em tempo fixo com sêmen resfriado ou descongelado na contra estação reprodutiva. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia 48., 2011. Belém. **Anais...**Viçosa: SBZ, [2011]. (CDROM).
- RUSSEL, A. Body condition scoring of sheep. **In Practice**, v.6, n.3, p. 91-93, 1984.
- SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM FOR WINDOWS®.Version 9.1. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA, 2002.

- SIGNORET, J.P., FULK, W.J., LINDSAY, D.R. Effectiveness of testosterone-treated wethers and ewes as teasers. **Applied Animal Ethology**, v.9, p.37-45, 1982.
- SCHOEMAN, S.J.; BURGER, R. [Performance of Dorper sheep under an accelerated lambing system](#) . **Small Ruminant Research**, vol 9, n 3, 265-28, 1992.
- UNGERFELD, R., RUBIANES, E. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. **Animal Science**, v.68, p. 349-353, 1999a.
- UNGERFELD, R., RUBIANES, E. Estrus response to the ram effect in Corriedale ewes primed with medroxyprogesterone during the breeding season. **Small Ruminant Research**, v.32, p.89-91, 1999b.
- VIÑALES, C., FORSBERG, M., BANCHERO, G., RUBIANES, E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. **Theriogenology**, v.55, p.993-1004, 2001.

CAPÍTULO VI - ANÁLISE DE CUSTO DE PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E TÉCNICAS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO PARA BORREGAS NA ESTAÇÃO E NA CONTRA ESTAÇÃO REPRODUTIVA

Resumo

Objetivou-se a análise de custo do cordeiro produzido a partir de dois protocolos hormonais de sincronização de estro (6 e 12 dias) e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) via cervical ou intrauterina por laparoscopia. Foram realizados dois experimentos: 1) março/2011 (estação reprodutiva) com 29 borregas submetidas a protocolo curto (n=15) e longo (n=14) e inseminadas em tempo fixo por laparoscopia com sêmen descongelado; 2) outubro/2011 (contra estação) com 37 borregas submetidas a protocolo curto (n=20) e longo (n=17) e inseminadas em tempo fixo por via cervical superficial com sêmen fresco diluído. Não houve diferença estatística ($P>0,05$) na taxa de prenhez de borregas, para nenhum dos protocolos nos dois experimentos. Entretanto, houve diferença no custo total do cordeiro produzido entre os protocolos hormonais e técnicas de inseminação. A mão de obra (47,4%) e os medicamentos para sincronização (33,8%) foram os componentes mais relevantes no custo total. O protocolo hormonal curto associado à inseminação artificial cervical com sêmen fresco diluído apresentou o menor custo por cordeiro produzido.

Palavras chave: inseminação cervical, laparoscopia, sêmen, análise econômica

ANALYSIS OF COSTS OF OESTRUS SYNCHRONIZATION PROTOCOLS AND TECHNIQUES OF ARTIFICIAL INSEMINATION AT FIXED TIME FOR EWE LAMBS IN SEASON AND NON-BREEDING SEASON

Abstract

The objective is to analyze the costs of lambs produced from two hormonal protocols for synchronization of estrus (6 and 12 days) and fixed-time artificial insemination (TAI) cervical or laparoscopic. Two experiments were conducted: 1) March/2011 (breeding season) with 29 ewe lambs subjected to short protocol (n = 15) and long (n = 14) and fixed-time inseminated by laparoscopy with thawed semen, 2) October/2011 (against station) with 37 ewe lambs subjected to short (n = 20) and long (n = 17)

protocols and insemination at fixed time by superficial cervical with diluted fresh semen. There was no statistical difference ($P > 0.05$) in pregnancy rate of ewe lambs for any of the protocols in both experiments. However, there was difference in the total cost of lambs considering hormonal protocols and insemination techniques. The labor (47.4%) and drugs for synchronization (33.8%) were the most important components in the total cost. The short hormonal protocol associated with cervical artificial insemination with fresh semen diluted had the lowest cost per lamb.

Key words: cervical insemination, laparoscopy, semen, economic analysis

1. Introdução

Nas últimas décadas, os sistemas de produção de ovinos se tornaram mais intensificados, com maior uso de tecnologia e voltados para a atividade de produção de carne. A eficiência reprodutiva dos rebanhos tornou-se um fator preponderante no resultado do negócio, uma vez que o retorno econômico está alicerçado no número de cordeiros produzidos (Ribeiro et al., 2002) e na escala de produção.

Seguindo o avanço tecnológico, diversos métodos para manipulação da reprodução de ovinos foram desenvolvidos, sendo alguns baseados na utilização de progesterona e seus análogos, com manipulação da fase luteal do ciclo estral, por ser esta fase a de maior duração e de maior capacidade de resposta à manipulação (Wildeus, 2000). Progesterona e progestágenos são amplamente utilizados para induzir o estro durante a contra estação reprodutiva (Ungerfeld e Rubianes, 1999), como também para sincronizar o estro durante a estação natural de monta (Fukui et al., 1999) e ainda para a inseminação artificial (Luther et al., 2007).

Associada aos métodos de controle hormonal do ciclo estral, a inseminação artificial (IA) é tecnologia também empregada nos rebanhos de ovinos por meio de técnicas de deposição do sêmen no início do canal cervical (cervical superficial), ou diretamente no corno uterino (laparoscopia; Evans, 1988; Cseh et al., 2012).

Pesquisas para determinar a análise de custo e a viabilidade econômica, bem como variáveis produtivas de maior impacto sobre o custo final do cordeiro, a partir do uso de diferentes sistemas de criação (Macedo et al., 2000; Siqueira et al., 2001; Barros et al., 2009a) e alimentares (Almeida Junior et al., 2004; Ziguer et al., 2011) têm sido descritos. Entretanto, a literatura é carente de informações sobre a análise de custo e

viabilidade econômica, quando se aplicam as biotecnologias reprodutivas, tais como as técnicas de inseminação artificial, nos rebanhos comerciais de pequenos ruminantes (Machado e Simplício, 1997) e a aplicação de protocolos indutores e sincronizadores de cio.

Em trabalho recente realizado por Cardoso et al. (2009), para determinar o custo do cordeiro produzido por meio de diferentes técnicas de inseminação artificial, concluíram que a inseminação artificial com sêmen fresco apresentou o menor custo por cordeiro produzido, quando comparado às demais técnicas. Mais estudos devem ser realizados para avaliar a representatividade dos componentes do custo das técnicas de IA, com os resultados reprodutivos e produtivos dos rebanhos comerciais apresentados com a aplicação de diferentes protocolos de indução hormonal.

O objetivo do presente trabalho foi a análise de custos de produção de cordeiros a partir de protocolos hormonais curtos (6 dias) e longos (12 dias), com inseminação artificial em tempo fixo (IATF), pela via cervical superficial com sêmen fresco diluído na contra estação reprodutiva, ou pela via intrauterina pela técnica de laparoscopia com sêmen descongelado na estação reprodutiva.

2. Material e Métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos (LAPOC), da Fazenda Experimental do Canguiri (UFPR), em dois períodos, sendo o primeiro no mês de março (experimento 1) e o segundo no mês de outubro (experimento 2) de 2011.

Experimento 1

Foram utilizadas 29 borregas Suffolk de 18 meses de idade, com peso de médio de 61,6 kg e escore de condição corporal médio de 2,25 (escala de 1 a 5; 1 magro e 5 gordo; Russel, 1984), sendo divididas em dois grupos. Estavam alocadas em pastagem de *Cynodon spp.* cv Tifton 85, tendo a disposição água e suplemento mineral, além de suplementação com ração concentrada farelada (0,2 kg/animal/dia). As fêmeas tiveram o estro sincronizado por meio da utilização de tratamento hormonal com pessários vaginais impregnados com 60 mg de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP), que foram mantidos por 6 (protocolo hormonal curto – PHC; 15 borregas) ou 12 dias

(protocolo hormonal longo – PHL; 14 borregas), e no dia da remoção destes, foi administrado 400 UI de Gonadotropina Coriônica Equina (eCG – Novormon[®]), e 37,5 µg de Cloprostenol Sódico (Sincrocio[®]).

O sêmen utilizado foi coletado a partir de um macho adulto Suffolk com fertilidade comprovada por exame andrológico prévio, apresentando motilidade progressiva de 70% e vigor 3. Para congelamento (março/2011), o sêmen foi coletado com vagina artificial, diluído numa relação de 1:4 (sêmen:diluyente), e posteriormente envasado em palhetas de 0,25 mL com concentração média de 150×10^6 espermatozoides por dose. O diluyente utilizado foi o Botu-bovi[®] (Biotech-Botucatu) e o sêmen congelado em máquina automática da marca TK3000SUPER[®] (TK Tecnologia em Congelamento), seguindo o protocolo P3.S2 recomendado pelo fabricante. Após a temperatura do sêmen atingir -120° C em vapor de nitrogênio líquido, as palhetas foram imersas no nitrogênio líquido e armazenadas em botijão criogênico. O exame subjetivo pós-descongelamento acusou 50% de espermatozoides vivos e vigor 3.

A inseminação artificial intrauterina utilizando a técnica de laparoscopia foi realizada em tempo fixo (IATF) entre 52 a 57 horas após a remoção das esponjas. As borregas eram contidas em maca em decúbito dorsal, com angulação de 45° em relação ao solo. Procedeu-se à tosquia, lavagem (água e sabão) e desinfecção (solução de álcool iodado à 2%) da região abdominal e paramamária, seguida de anestesia local na região ventral com lidocaína a 2%, em dois pontos localizados caudalmente ao umbigo e lateralmente à linha média. O laparoscópio foi introduzido no abdômen empregando-se dois trocateres de 5,5 mm em dois pontos previamente anestesiados. Com o primeiro trocater foi feita a insuflação da cavidade abdominal com ar comprimido e penetração do laparoscópio, e com o segundo trocater, introduziram-se um manipulador, para auxiliar a localização do útero, e uma pipeta de inseminação (IMV[®]), recoberta com bainha (Aspic[®]), com extremidade perfurante, para permitir sua introdução no lúmen uterino e deposição da dose de sêmen (0,25 mL) entre os dois cornos uterinos, ou seja, metade para cada corno.

O diagnóstico de prenhez foi realizado 30 dias após a IATF por exame de ultrassonografia transretal, com aparelho de ultrassom Landwind C40[®] (transdutor linear de 5MHz).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, tendo os animais como repetições. Os efeitos de tratamentos e as diferenças entre estes sobre as variáveis percentual de prenhez foram avaliados pelo teste de Qui-quadrado utilizando-se o

procedimento CATMOD do software estatístico SAS (SAS Institute, 2002), a 5% de probabilidade.

Experimento 2

Utilizaram-se 37 borregas cruza White Dorper x Suffolk, com média de 12 meses de idade, peso médio de 54,2 kg, escore de condição corporal de 3 (1 a 5, segundo Russel, 1984)), e alimentadas com pastagem de Tifton 85, suplementadas com ração concentrada farelada (0,2 kg/animal/dia), tendo a disposição água e sal mineral.

O tratamento hormonal para sincronização do estro deste experimento, seguiu o mesmo procedimento descrito no experimento 1, sendo que foram utilizadas 20 borregas para o protocolo hormonal curto (6 dias) e 17 borregas para o protocolo hormonal longo (12 dias).

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foi realizada entre 52 e 56 horas após a remoção dos pessários. Utilizou-se a técnica de IA cervical superficial, com a utilização do aplicador para ovinos e caprinos IMV[®]. O sêmen utilizado na IA foi proveniente de um carneiro de 18 meses de idade da raça White Dorper, colhido com vagina artificial momentos antes da inseminação, avaliado em microscópio para comprovar a capacidade fertilizante (motilidade progressiva de 70% e vigor 4) e a concentração espermática ($2,4 \times 10^9$ /ml), e mantido em temperatura de 35° C até posterior diluição de uma parte de sêmen para duas partes de diluente (1:2). O diluente era composto de citrato de sódio (2,37 g), glicose (0,80 g), gema de ovo (20 mL) e água destilada (q.s.p. 100 mL), adaptado de Salamon e Maxwell (2000). Realizou-se contagem dos espermatozóides a partir de uma amostra de sêmen diluído, resultando em média de 200×10^6 espermatozóides totais na dose inseminante. No momento da inseminação, o sêmen diluído era envasado em palheta de 0,25 ml e aplicado via cervical superficial.

O diagnóstico de prenhez foi realizado 30 dias após a IATF por exame de ultrassonografia transretal, com aparelho de ultrassom Landwind C40[®] (transdutor linear de 5MHz).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, tendo os animais como repetições. Os efeitos de tratamentos e as diferenças entre estes sobre as variáveis percentual de prenhez foram avaliados pelo teste de Qui-quadrado utilizando-se o

procedimento CATMOD do software estatístico SAS (SAS Institute, 2002), a 5% de probabilidade.

Metodologia para os cálculos de Custo

No presente estudo, para o cálculo de custo das técnicas de inseminação artificial (cervical superficial ou intrauterina por laparoscopia) e dos protocolos hormonais de sincronização de estro, foram considerados os custos variáveis e a renda dos fatores (CONAB, 2010; Matsunaga et al., 1976).

Os custos variáveis foram compostos por *flushing* alimentar (fornecimento de ração suplementar na fase reprodutiva), mão de obra e medicamentos necessários para a sincronização de estro nas fêmeas.

A suplementação com ração concentrada para as fêmeas durante o período que antecede a reprodução (*flushing*) compôs o custo variável, pois esta é específica de períodos reprodutivos. As fêmeas receberam 0,2 kg/cabeça/dia durante 45 dias (dia da inserção das esponjas com MAP dos protocolos hormonais longos até o dia do exame de ultrassonografia para diagnóstico de prenhez). Atribuiu-se o valor comercial de R\$ 0,60/kg de ração concentrada (ração para ovinos adultos da Cooperativa Castrolanda).

A mão de obra foi considerada de acordo com as seguintes atividades: a) protocolo hormonal para sincronização de estro: três trabalhadores, sendo um auxiliar de veterinário e dois funcionários; b) inseminação artificial cervical superficial com sêmen fresco diluído: quatro trabalhadores, sendo um veterinário, um auxiliar de veterinário e dois funcionários; c) inseminação artificial intrauterina por laparoscopia: seis trabalhadores, sendo um veterinário, um auxiliar de veterinário, e quatro funcionários; d) diagnóstico de prenhez: três trabalhadores, sendo um veterinário e dois funcionários. O custo da mão de obra foi calculado em função da remuneração em Real (R\$) por hora trabalhada (reais/hora) para cada categoria, com base nos valores vigentes do período de realização do estudo. Para a categoria funcionário rural, considerou-se o valor do salário mínimo (R\$ 674,00) e encargos sociais totalizando R\$ 11,25/hora, e para auxiliares de veterinário, o dobro do valor considerado para funcionário rural, ou seja, R\$ 22,50/hora. Os honorários veterinários (reais/hora/atividade) foram calculados a partir de valores declarados por técnicos que efetivamente realizam as atividades descritas neste estudo, de acordo com os seguintes valores: a) inseminação artificial cervical com sêmen fresco diluído = R\$ 200,00/hora (R\$ 10,00/fêmea; tempo de

inseminação: 3 minutos/fêmea; 20 fêmeas/hora); b) inseminação artificial intrauterina por laparoscopia = R\$ 250,00/hora (R\$ 25,00/fêmea; tempo de inseminação: 6 minutos/fêmea; 10 fêmeas/hora); c) diagnóstico de prenhez por ultrassonografia transretal = R\$ 60,00/hora (R\$ 3,00/fêmea; tempo de exame: 3 minutos/fêmea; 20 fêmeas/hora).

Os tempos dispendidos nas atividades foram considerados após consulta prévia a veterinários que as realizam a campo, além de outros estudos realizados por nosso grupo de pesquisa e também conforme sugerido por Cardoso et al., (2009), e são apresentados na Tabela 1. O tempo total de atividade desde a entrada até a saída efetiva dos animais no curral de manejo para sincronização de estro (inserção e retirada das esponjas com MAP, além da administração de eCG e PGF2 α), inseminação artificial cervical, inseminação artificial intrauterina e diagnóstico de prenhez, foram respectivamente, 4, 3, 6 e 3 minutos/fêmea.

A contratação e pagamento pela mão de obra médica veterinária para coleta de sêmen (IATF cervical), inseminação artificial (cervical e laparoscopia) e exame de ultrassonografia para diagnóstico de prenhez, incluiu todos os materiais de consumo envolvidos em cada um dos procedimentos, ficando estes excluídos dos cálculos de custo variável. Considerou-se o valor de R\$ 8,00/dose de sêmen congelado, na planilha de cálculos para a inseminação intrauterina por laparoscopia, excluindo assim o custo com a mão de obra e materiais usados neste trabalho.

Os custos considerados para os medicamentos utilizados na sincronização de estro das fêmeas foram os seguintes: a) esponjas vaginais de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) com custo unitário/fêmea de R\$ 5,00; b) oxitetraciclina (0,5 mL injetado na esponja) com custo de R\$ 0,10/dose; c) Gonadotropina Coriônica Equina (eCG) com custo R\$ 12,10/dose (400 UI); d) Cloprostenol Sódico (PGF2 α) com custo de R\$ 1,10/dose (0,5 mL); totalizando R\$ 18,30/fêmea sincronizada. Os mesmos foram consultados junto à empresa Agroline que comercializa os produtos.

Os custos fixos normalmente considerados nas metodologias de análises de custo de produção, como depreciação e manutenção de equipamentos (Canziani, 2005), foram desconsiderados neste estudo, pois estes ficaram a cargo da mão de obra contratada para as atividades com seus respectivos equipamentos.

A renda dos fatores é descrita como uma remuneração pelo uso do capital, sendo capital imobilizado (reprodutores, matrizes, fêmeas para expansão e equipamentos) ou capital de giro (componentes do custo variável; Lopes e Carvalho, 2002). Entretanto no

presente estudo, considerou-se para a renda de fatores somente o botijão criogênico (capital imobilizado - equipamento) utilizado pelo produtor para manutenção das doses de sêmen congelado para IATF intrauterina e a remuneração do capital de giro, referentes às despesas com custo variável. As despesas com aquisição e manutenção de matrizes e reprodutores, juros de capital imobilizado (matrizes, terra, pastagem, máquinas e instalações) e depreciação de matrizes foram desconsideradas conforme sugerido por Silva et al. (2007). A taxa de juros de operação de crédito (taxa Selic) foi utilizada como parâmetro para a determinação da renda dos fatores, considerando o percentual referente ao período de 45 dias do estudo (0,9%), segundo valor informado pelo Banco Central do Brasil (www.bcb.gov.br).

O custo total resultou da somatória dos custos variáveis e da renda de fatores por cordeiro produzido (custo por animal), considerando os diferentes números de repetições e resultados de taxas de prenhez dos experimentos. Também foram considerados nos cálculos de custo, os seguintes coeficientes zootécnicos para os rebanhos: prolificidade = 110%; intervalo entre partos = 12 meses; sobrevivência de cordeiros = 90%; idade ao desmame = 60 dias; peso de venda do cordeiro = 40 kg; idade ao abate = 150 dias; e rendimento de carcaça médio = 47%.

Para o procedimento de cálculo dos custos, foi aplicada a planilha (Excel for Windows®, 2010) de Custos Anuais de Produção de Cordeiro de Corte desenvolvida pelo Laboratório de Análises Socioeconômicas e Ciência Animal da Universidade de São Paulo, campus Pirassununga.

3. Resultados e Discussão

As taxas de prenhez referentes ao experimento 1 e 2 são apresentadas respectivamente nas Tabelas 1 e 2, e demonstram que não houve diferença estatística ($P>0,05$) entre a utilização de protocolos hormonais curto e longo de sincronização de estro associados a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), utilizando a técnica cervical superficial (com sêmen fresco diluído na contra estação reprodutiva) ou intrauterina por laparoscopia (com sêmen congelado na estação reprodutiva). Verificase, no entanto, diferença numérica na quantidade de fêmeas prenhes com maior número para os animais submetidos ao protocolo hormonal curto em comparação com o protocolo hormonal longo em ambos os experimentos, na estação ou contra estação reprodutiva.

Tabela 1. Taxa de fertilidade de borregas Suffolk, sincronizadas com protocolo curto (6 dias) ou longo (12 dias) e inseminadas em tempo fixo (IATF) por laparoscopia com sêmen descongelado durante a estação reprodutiva

Protocolo Hormonal	N total	Prenhez	
		N	%
Curto	15	7	46,7 a
Longo	14	4	28,6 a
Total	29	11	38,0

^aMédias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem a ($P>0,05$) a 5%.

Tabela 2. Fertilidade de borregas cruzas White Dorper x Suffolk submetidas a protocolo hormonal curto (6 dias) e longo (12 dias) de indução de cio, e inseminadas em tempo fixo (IATF) pela via cervical superficial com sêmen fresco diluído na contra estação reprodutiva

Protocolo Hormonal	N total	Prenhez	
		N	%
Curto	20	12	60,0 a
Longo	17	5	29,4 a
Total	37	11	44,7

^aMédias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem a ($P>0,05$) a 5%.

Tabela 3. Tempo total de manejo (minutos) para as atividades da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) via cervical e intrauterina para borregas Suffolk e cruzadas Dorper x Suffolk

Atividade	Tempo total de manejo (minutos)			
	IATF Cervical		IATF Intrauterina	
	PC (n=20)	PL (n=17)	PC (n=15)	PL (n=14)
Sincronização de Estro	80	68	60	56
Inseminação Artificial	60	51	90	84
Diagnóstico de Prenhez	60	51	45	42
TOTAL	200	170	195	182

O tempo total de manejo para cumprir as atividades necessárias, incluindo a sincronização do estro, inseminação artificial e exame de ultrassonografia, foi de 10 minutos em média para cada borrega em inseminação cervical superficial e 13 minutos em média para cada borrega em inseminação intrauterina por laparoscopia (Tabela 3).

O custo total com mão de obra para as atividades relativas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF), pela via cervical ou intrauterina, está apresentado na Tabela 4.

Os maiores custos de mão de obra são verificados para as atividades referentes aos procedimentos de inseminação artificial, seja cervical ou intrauterina, pois esta atividade necessitava de maior número de pessoas, e de mão de obra técnica veterinária. Seguidos estão os custos com mão de obra para diagnóstico de prenhez e sincronização de estro. Os custos de mão de obra veterinária representaram 75 e 78,3% do custo total de mão de obra para a inseminação cervical superficial e intrauterina por laparoscopia, respectivamente. Estes custos com mão de obra estão acima dos valores descritos por Cardoso et al. (2009) para IA cervical com sêmen fresco (17,7%), IA com sêmen congelado (9,4%), e IA por laparoscopia (26,4%), pois estes autores, diferentemente deste estudo, não incluíram junto com a mão de obra técnica veterinária, as despesas com material de consumo (nitrogênio líquido, bairrada descartável, etc.), o que levou ao resultado de 35% a menos do valor cobrado para a técnica cervical e 70% a menos para a técnica de laparoscopia. Embora também represente o maior dispêndio nas análises de custo de sistemas de produção (Barros et al., 2009a), a mão de obra é um fator extremamente importante na criação de pequenos ruminantes; isso ocorre especialmente em atividades como a inseminação artificial: por tratar-se de animal de pequeno porte, e pela falta de troncos de contenção adequados nas propriedades, que mantenham a integridade física dos animais, a contribuição humana é a maneira mais adequada e utilizada para contenção dos mesmos nesta tarefa, envolvendo atividade de vários funcionários. Outro fator refere-se à necessidade de técnicos especializados para atividades como a inseminação artificial intrauterina, e congelamento de sêmen ovino, em função de características anatômicas e funcionais específicas, o que aumenta a representatividade deste componente nos custos totais.

Tabela 4. Custo total (R\$) da mão de obra para as atividades da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) via cervical e intrauterina para 29 borregas Suffolk e 37 cruzadas Dorper x Suffolk

Atividade	Custo da mão de obra (R\$)			
	IATF Cervical		IATF Intrauterina	
	PC (n=20)	PL (n=17)	PC (n=15)	PL (n=14)
Sincronização de Estro	63,00	53,56	47,26	44,10
Inseminação Artificial	182,50	155,14	311,25	290,50
Diagnóstico de Prenhez	160,00	136,00	138,76	129,50
Total (R\$)	405,5	344,70	497,27	464,10

Entre todos os componentes de custo expressos em reais (R\$) (Tabela 5) ou em percentual relativo (Figura 1), a mão de obra foi o de maior expressão no custo total, seguido pelos medicamentos usados para sincronização, independente da técnica ou protocolo hormonal utilizado. Silva et al. (2007), também relatam a mão de obra como sendo o item de maior peso no custo total (66,61%), seguido de material de consumo (26,31%; dentre os quais medicamentos de sincronização) para inseminação artificial em bovinos de corte. Estes autores atribuem a maior representação da mão de obra nos custos totais, em função da necessidade de observação de estro e inseminações diárias nos rebanhos de bovinos, sendo este ainda mais elevado, quando o percentual de expressão de estro e inseminação fica reduzido no final do período de estação reprodutiva.

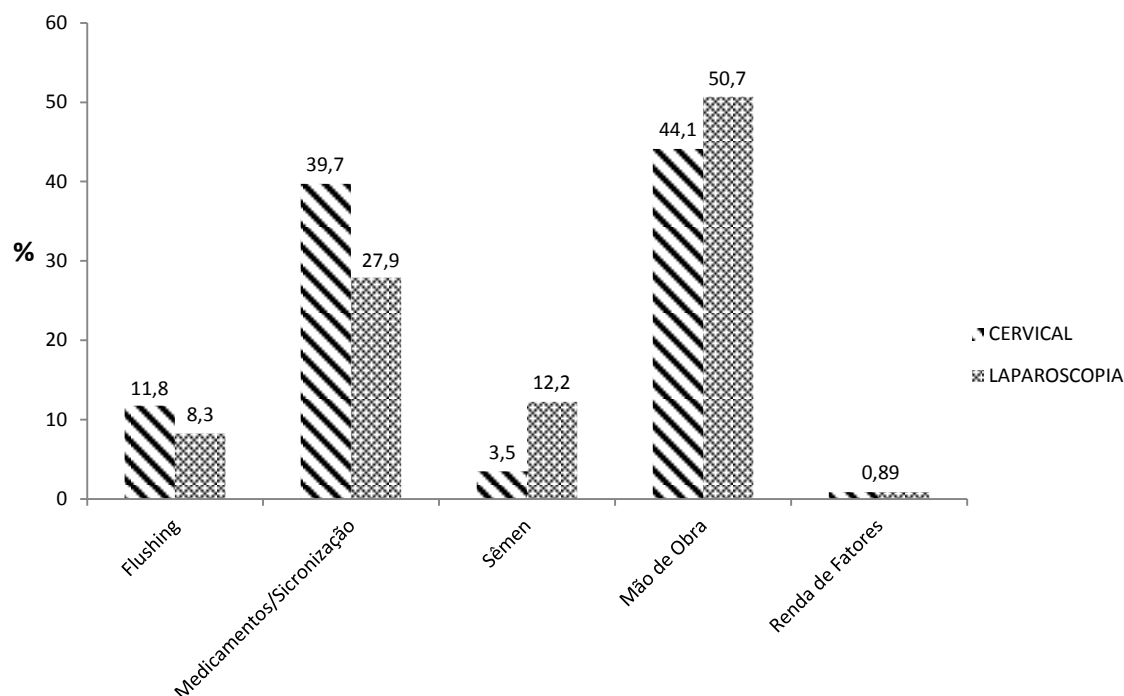


Figura 1. Percentual relativo dos itens componentes de custo por fêmea inseminada pela via cervical superficial ou intrauterina por laparoscopia

Dentre os medicamentos usados na sincronização de cio, o de preço mais elevado e que mais interfere no custo deste procedimento, é a Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG; 66,3%), seguido pelos pessários impregnados com MAP (27,4%), PGF2 α (6,03%) e a oxitetraciclina (0,28%). Estes valores estão de acordo com os encontrados por Cardoso et al. (2009), onde o eCG contribuiu com 60% do custo do tratamento hormonal. Entretanto, este medicamento está sempre associado aos progestágenos nos tratamentos para indução e sincronização da ovulação nos programas de IATF, pois possuem atividade simultânea ao FSH e LH, iniciando os eventos pré-ovulatórios e aumentando as gonadotropinas endógenas no período de contra estação reprodutiva; durante a estação reprodutiva apresenta efeito positivo sobre a taxa de ovulação e no número de cordeiros nascidos (Abecia et al., 2012), o que poderia compensar o seu custo.

Quando utilizado no momento da remoção dos progestágenos, o eCG pode compensar os efeitos deletérios dos tratamentos longos (12 a 14 dias) na dinâmica folicular, promovendo o recrutamento de novos folículos, e aumentando assim a taxa de fertilidade (Noel et al., 1994). Luther et al. (2007) relataram que houve aumento nas taxas de prenhez ($P < 0,05$), quando utilizadas doses de 400 UI de eCG (na remoção dos

dispositivos de progestágenos por 12 dias) durante a inseminação artificial por laparoscopia (73,7%), comparado ao tratamento sem eCG (41,2%). Isso sugere que doses menores poderiam reduzir substancialmente o percentual de custo deste medicamento na composição do custo total, entretanto com prejuízos para fertilidade e prolificidade.

Cardoso et al. (2009) identificaram que os dispêndios com tratamento hormonal foram superiores aos demais componentes do custo de produção dos cordeiros por meio de diferentes técnicas de inseminação (65,8%, 54,0% e 28,7% para IA cervical com sêmen fresco, IA cervical com sêmen congelado e IA por laparoscopia com sêmen congelado, respectivamente). A reutilização de dispositivos de progesterona (CIDR) por uma ou duas vezes em protocolos hormonais curtos (5 a 7 dias) são descritos na literatura (Pinna et al., 2012; Cox et al., 2012) com taxas satisfatórias de indução e sincronização de estro e podem contribuir para redução no custo dos tratamentos hormonais.

O terceiro item mais representativo foi o *flushing* alimentar para os animais da IA cervical e o do sêmen congelado para as fêmeas da inseminação por laparoscopia. Esta condição foi invertida para o quarto custo mais relevante, ou seja, a suplementação para as fêmeas da inseminação por laparoscopia, e o valor do sêmen fresco diluído da IA cervical. O percentual de contribuição do custo do sêmen no custo total deste estudo (12% para sêmen congelado; 3,5% para sêmen fresco diluído), está próximo dos valores relatados por Cardoso et al. (2009), de 13,9% para sêmen congelado e 9,9% para sêmen fresco. Entretanto, está menor que os valores relatados por Machado e Simplício (1997) para sêmen congelado de caprinos (19%).

Considerando o custo total por fêmea, ao final de todas as atividades, as pertencentes à inseminação artificial cervical superficial apresentaram valor 30% menor (R\$ 45,93) do que as fêmeas inseminadas pela técnica intrauterina por laparoscopia (R\$ 65,38).

A renda dos fatores, representada pelo juro do capital de giro, apresentaram o menor valor percentual (0,89%) sobre o custo total do cordeiro.

Tabela 5. Componentes do custo e custo total (R\$) para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) via cervical e intrauterina para borregas Suffolk e cruzadas Dorper x Suffolk

Componentes do Custo	Custo da IATF (R\$)			
	IATF Cervical		IATF Intrauterina	
	PC (n=20)	PL (n=17)	PC (n=15)	PL (n=14)
Flushing	108,00	91,80	81,00	75,60
Medicamentos/Sincronização	365,00	310,25	273,75	255,50
Sêmen	32,00	27,20	120,00	112,00
Mão de Obra	405,5	344,70	497,27	464,10
Renda de Fatores	8,19	6,97	8,75	8,16
TOTAL (R\$)	918,69	780,92	980,77	915,36
Custo Total/fêmea (R\$)	45,93		65,38	

O custo total por cordeiro produzido a partir das técnicas de inseminação artificial cervical e intrauterina associadas a protocolos curtos e longos de sincronização de cio estão apresentados na Tabela 6. Os menores custos de produção dos cordeiros foram encontrados para as fêmeas submetidas aos protocolos hormonais curtos, independente da técnica de inseminação utilizada, pois estes resultaram em maiores taxas de prenhez, característica diretamente relacionada ao número de cordeiros nascidos e responsáveis pelo pagamento de todas as atividades e procedimentos envolvidos neste estudo. O cordeiro de menor custo (R\$ 77,33) foi obtido utilizando o protocolo hormonal curto (6 dias) a base de MAP e inseminação artificial com sêmen fresco diluído, embora este valor seja representativo de aproximadamente 1/3 da remuneração recebida pelo produtor, por cada cordeiro enviado ao abate. Deve-se considerar ainda que, a este custo, não estão inclusos todos os outros dispêndios envolvidos no sistema de produção deste mesmo cordeiro, que segundo Barros et al. (2009b), encontra-se entre R\$ 2,16 a R\$ 4,80/kg de cordeiro vivo, para módulos de produção de 600 e 150 ovelhas, respectivamente. Somados os valores em kg PV da IATF de menor custo (R\$ 1,93) neste estudo (Tabela 6) ao custo do cordeiro no sistema produção para um módulo de 600 ovelhas (R\$ 2,16) citado por Barros et al. (2009b), o custo total representaria aproximadamente 73% do valor de R\$ 5,60 recebido pelo produtor de ovinos pelo kg vivo do cordeiro no Estado do Paraná (Farmpoint, 2013).

A diferença no custo total por cordeiro entre os protocolos hormonais foi maior para a técnica cervical (104%) do que para a laparoscopia (63,3%). Isto se deve a maior diferença numérica encontrada na taxa de fertilidade entre os protocolos para as duas técnicas. Considerando as respectivas taxas de fertilidade encontradas neste trabalho (Tabelas 1 e 2), a escolha pelo protocolo poderá onerar mais ou menos, dependendo da técnica escolhida.

Tabela 6. Custo total (R\$) por cordeiro produzido a partir de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) via cervical e intrauterina para borregas Suffolk e cruzadas Dorper x Suffolk

Experimentos		Custo Total por Cordeiro (R\$)		
		Animal	kg PV	kg Carça
IATF Cervical	PHC	77,33	1,93	4,11
	PHL	157,82	3,95	8,39
Média		117,57	2,94	6,25
IATF Laparoscopia	PHC	141,42	3,54	7,52
	PHL	230,92	5,77	12,28
Média		186,17	4,65	9,9

Além da taxa de fertilidade, a prolificidade nos rebanhos submetidos aos protocolos hormonais, influenciam sobremaneira os resultados de custo da análise econômica. Neste estudo, considerou-se uma prolificidade de 110%, ou seja, 1,1 cordeiros por ovelha prenha, pois este cenário é frequentemente encontrado em propriedades de produção de ovinos, e para padronizar os índices zootécnicos entre os protocolos hormonais e técnicas de IA utilizadas. Considerando a hipótese de obterem-se taxas de prolificidade de 130% e 150%, com o protocolo hormonal curto e inseminação artificial cervical com sêmen fresco diluído, haveria redução de 15,3% e 26,7%, respectivamente, no custo total do cordeiro produzido. Portanto, para cada unidade percentual de aumento na prolificidade, poderia haver redução de 0,9% no custo total do cordeiro produzido por meio da sincronização de borregas com protocolo hormonal curto e inseminação em tempo fixo com sêmen fresco diluído.

O dispêndio monetário feito pelo produtor nos tratamentos hormonais para sincronização e indução de estro, seguidos de programas reprodutivos planejados,

devem ser considerados como investimento no rebanho, pois estes poderão indicar as fêmeas que apresentam respostas melhores de estro e fertilidade, utilizando este parâmetro como critério de seleção de matrizes com maior capacidade de produção de cordeiros.

4. Conclusão

A sincronização de estro pelo protocolo hormonal curto associado a inseminação artificial em tempo fixo pela via cervical superficial com sêmen fresco diluído, proporcionou o menor custo total por cordeiro produzido.

A mão de obra seguida dos medicamentos de sincronização de estro são os componentes de custo mais relevantes na aplicação das biotecnologias reprodutivas em rebanhos de ovinos.

Maiores taxas de prenhez nas fêmeas submetidas à técnica intrauterina por laparoscopia, podem reduzir o custo total do cordeiro produzido a partir desta técnica, viabilizando sua utilização em rebanhos comerciais de ovinos para produção de carne.

5. Referências

- ABECIA, J.A., FORCADA, F., GONZÁLEZ-BULNES, A. Hormonal control of reproduction in small ruminants. **Animal Reproduction Science**, v. 130, p. 173-179, 2012.
- ALMEIDA JUNIOR, G.A., COSTA, C., MONTEIRO, A.L.G., GARCIA, C.A., MUNARI, D.P., NERES, M.A. Desempenho, características de carcaça e resultado econômico de cordeiros criados em *creep feeding* com silagem de grãos úmidos de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1048-1059, 2004.
- BARROS, C.S., MONTEIRO, A.L.G., POLI, C.H.E.C., DITTRICH, J.R., CANZIANI, J.R.F., FERNANDES, M.A.M. Rentabilidade da produção de ovinos de corte em pastagem e em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2270-2279, 2009a.
- BARROS, C.S., MONTEIRO, A.L.G., PRADO, O.R. Gestão e controle de custos nos sistemas de produção de ovinos e caprinos. In: Simpósio Paranaense de Ovinocultura, 14º, **Anais...**Curitiba, PR, 2009b. CD Rom.

- CANZIANI, J.R.F. **O cálculo e a análise do custo de produção para fins de gerenciamento e tomada de decisão nas propriedades rurais**. Curitiba: DERE/SCA/UFPR, 2005. 19 p. Material Didático.
- CARDOSO, E., CRUZ, J.F., FERRAZ, R.C.N., TEIXEIRA NETO, M.R., SANTOS, R.S. Avaliação econômica de diferentes técnicas de inseminação artificial em ovinos da raça Santa Inês. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.4, n.2, p.217-222, 2009.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Custos de produção agrícola: a metodologia da CONAB. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Editores: Sousa, B.F.*et al.* Brasília, 2010. 60 p.
- COX, J.F., ALLENDE, R., LARA, E., LEIVA, A., DÍAZ, T., DORADO, J., SARAIVA, F. Follicular dynamics, interval to ovulation and fertility after AI in short-term progesterone and PGF_{2α} oestrous synchronization protocol in sheep. **Reproduction in Domestic Animals**, v.47, p.946-951, 2012.
- CSEH, S., FAIGL, V., AMIRIDIS, G.S. Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. **Animal Reproduction Science**, v.130, p. 187-192, 2012.
- EVANS, G. Current topics in artificial insemination of sheep. **Australian Journal of Biological Science**, v. 41, p. 103-116, 1988.
- FARMPOINT. Confira a 19ª cotação mensal do preço do cordeiro realizada pelo FarmPoint. Capturado em <http://www.farmpoint.com.br/cadeia-produtiva/giro-de-noticias/>, 2013
- FUKUI, Y., ISHIKAWA, D., ISHIDA, N., OKADA, M., ITAGAKI, R., OGISO, T. Comparison of fertility of estrous synchronized ewes with four diferente intravaginal devices during the breeding season. **Journal of Reproduction and Development**, v.45, p.337-343, 1999.
- LOPES, M. A.; CARVALHO, F. C. de. Custo de produção do gado de corte. Lavras: UFLA, 2002. 47 p. (Boletim Agropecuário, 47).
- LUTHER, J.S., GRAZUL-BILSKA, A.T., KIRSCH, J.D., WEIGL, R.M., KRAFT, K.C., NAVANUKRAW, C., PANT, D., REYNOLDS, L.P., REDMER, D.A. The effect of GnRH, eCG and progestin type on estrous synchronization following laparoscopic AI in ewes. **Small Ruminant Research**, v. 72, p. 227-231, 2007.

- MACEDO, F.A.F., SIQUEIRA, E.R., MARTINS, E.N. Análise econômica da produção de carne de cordeiros sob dois sistemas de terminação: pastagem e confinamento. **Ciência Rural**, v.30, n.4, p.677-680, 2000.
- MACHADO, R., SIMPLICIO, A.A. Composição dos custos de programas reprodutivos para caprinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, n2, p.150-151, 1997.
- MATSUNAGA, M; BEMELMANS, P.F.; TOLEDO, P.E.N. de; DULLEY, R.D.; OKAWA, H.; PEDROSO, I.A. Metodologia de custo de produção utilizada pelo IEA. **Agricultura em São Paulo**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 123-39, 1976.
- NOËL, B., BISTER, J.L., PIERQUIN, B., PAQUAY, R. Effects of FGA and PMSG on follicular growth and LH secretion in Suffolk ewes. **Theriogenology**, v.41, p.719-727, 1994.
- PINNA, A.E., BRANDÃO, F.Z., CAVALCANTI, A.S., BORGES, A.M., SOUZA, J.M.G., FONSECA, J.F. Reproductive parameters of Santa Inês ewes submitted to short-term treatment with re-used progesterone devices. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.2, p.333-340, 2012.
- RIBEIRO, L.A.O., GREGORY, R.M., MATOS, R.C. Prenhez em rebanhos ovinos do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, V.32, n.4, p.637-641, 2002.
- RUSSEL, A. Body condition scoring of sheep. **In Practice**, v.6, n.3, p. 91-93, 1984.
- SALAMON, S., MAXWELL, W.M.C. Storage of ram semen. **Animal Reproduction Science**, v.62, p. 77-111, 2000.
- SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM FOR WINDOWS®.Version 9.1. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA, 2002.
- SILVA, A.S., COSTA E SILVA, E.V., NOGUEIRA, E., ZÚCCARI, C.E.S.N. Avaliação do custo/benefício da inseminação artificial convencional e em tempo fixo de fêmeas bovinas pluríparas de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.4, p.443-445, 2007.
- SIQUEIRA, E.R., SIMÕES, C.D., FERNANDES, S. Efeito do sexo e do peso ao abate sobre a produção de carne de cordeiro. I. Velocidade de crescimento, caracteres quantitativos da carcaça, pH da carne e resultado econômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.844-848, 2001.
- UNGERFELD, R., RUBIANES, E. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. **Animal Science**, v.68, p. 349-353, 1999.

WILDEUS, S. Current concepts in synchronization of estrus: sheep and goats. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 1-14, 2000.

ZIGUER, E.A., TONIETO, S.R., PFEIFER, L.F.M., BERMUDEZ, R.F., SCHWEGLER, E., CORRÊA, M.N., DIONELLO, N.J.L. Resultados econômicos da produção de cordeiros em confinamento utilizando na dieta casca de soja associada a quatro fontes de nitrogênio não-protéico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.9, p.2058-2065, 2011.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre os fatores que podem efetivamente contribuir para a manutenção da regularidade de oferta de carne de cordeiro para o mercado consumidor, destacam-se especialmente o manejo alimentar dos sistemas de produção associado à intensificação da atividade reprodutiva nos rebanhos de ovinos.

A intensificação no manejo reprodutivo pode resumidamente ser descrita como as ferramentas oportunizadas ao rebanho ovino pelo criador, de forma que as ovelhas tenham condições efetivas de fertilização, gestação, parição e nova concepção. Zootecnicamente pode-se avaliar a eficiência reprodutiva de um rebanho pelo intervalo entre partos, que deve ser igual ou menor que 12 meses. Além disso, pode-se medir a eficiência da aplicação das ferramentas através dos índices número e kg de cordeiros por ovelha acasalada.

A implantação de biotecnologias reprodutivas, sem dúvida, é uma decisão importante dentro do conceito de intensificação; entretanto, o cuidado com fatores como manejo, nutrição e sanidade devem anteceder qualquer iniciativa de investimento, pois caso estes sejam negligenciados o insucesso reprodutivo e produtivo serão constatados.

Uma criteriosa avaliação prévia da idade, peso e escore de condição corporal dos animais que participarão de programas reprodutivos intensivos, poderão auxiliar na obtenção de índices satisfatórios, maximizando o investimento realizado. Entretanto, há necessidade de estrutura gerencial (identificação animal eficiente e escrituração zootécnica) e física (curral de manejo e balança de pesagem de animais) mínimas, para execução das tarefas, atualmente inexistentes em grande parte dos rebanhos estudados no Estado do Paraná. Em função deste fato, estabeleceu-se como rotina anterior à implantação de protocolos hormonais para sincronização de estro e inseminação artificial, a realização de exame de ultrassonografia para detecção de prenhez por monta natural não programada e, muitas vezes, desconhecida do criador. Recomendava-se também o isolamento dos machos reprodutores entre o exame de ultrassonografia no início do experimento até o mesmo procedimento 30 dias passados da inseminação artificial em tempo fixo.

A implantação de experimentação científica em propriedades de produção comercial de ovinos, aparentemente considerada simples, necessita de condições acordadas previamente, de preferencia contratuais, entre o grupo de pesquisa e os criadores, quanto às obrigações e responsabilidades de cada uma das partes, evitando

danos à execução e coleta das informações imprescindíveis ao rigor científico de dissertações e teses, além de garantir a prestação de contas dos recursos disponíveis pelos projetos de pesquisa.

Do volume de informações geradas a partir de todos os experimentos realizados para confecção desta tese, embora algumas vezes confeccionados com número reduzido de animais nos rebanhos, pode-se sugerir algumas considerações:

- protocolos hormonais curtos (6 dias) de indução e sincronização de estro a base de 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP), sugerem melhores resultados taxa de prenhez para fêmeas na estação reprodutiva independente da categoria (nulíparas ou múltíparas) e para fêmeas nulíparas em anestro sazonal; protocolos hormonais longos (12 dias) sugerem melhores resultados para fêmeas adultas em anestro sazonal;

- técnicas de inseminação artificial que demandam maiores requisitos técnicos e investimento como a intrauterina por laparoscopia, justificam-se quando o sêmen utilizado foi proveniente de reprodutores comprovadamente superiores, e mantidos em locais distantes da criação; há possibilidade de obtenção de taxas de fertilidade satisfatórias com inseminação artificial em tempo fixo utilizando técnica de menor custo, como a cervical superficial associada a sêmen fresco diluído ou refrigerado como fazem atualmente alguns países produtores de carne ovina, como a Espanha;

- a análise do custo dos procedimentos de sincronização de estro e inseminação artificial pode contribuir para uma maior utilização desta biotecnologia como ferramenta de melhora genética nos rebanho comerciais de ovinos.